

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



TESIS

BIOLOGÍA DE LA LATENCIA EN SEMILLAS DE CHILE PIQUÍN
Capsicum annuum var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill.
EL PAPEL DE LAS FITOHORMONAS

POR

ALMA PAULA LÓPEZ VALDEZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN MANEJO Y
ADMINISTRACIÓN DE RECURSOS VEGETALES

MAYO, 2018

BIOLOGÍA DE LA LATENCIA EN SEMILLAS DE CHILE PIQUÍN
Capsicum annuum var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill.
EL PAPEL DE LAS FITOHORMONAS

Comité de Tesis

Dr. Marco Antonio Alvarado Vázquez
Presidente

Dra. Alejandra Rocha Estrada
Secretario

Dra. Deyanira Quistián Martínez
Vocal

Dr. Jorge Armando Verduzco Martínez
Vocal

Dr. Sergio Manuel Salcedo Martínez
Vocal

BIOLOGÍA DE LA LATENCIA EN SEMILLAS DE CHILE PIQUÍN
***Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill.**
EL PAPEL DE LAS FITOHORMONAS

Dirección de Tesis

Dr. Marco Antonio Alvarado Vázquez
Director

Dra. María de Lourdes Díaz Jiménez
Director externo

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por otorgarme una beca para realizar mis estudios de posgrado así como una estancia de investigación en el extranjero.

Al Departamento de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, por aceptar y darme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado en esa Institución.

A la Dra. Lourdes Díaz Jiménez como directora externa para la dirección de esta tesis, por su amabilidad para prestar el equipo, material y reactivos necesarios para la realización del proyecto, por sus opiniones y sugerencias acertadas, así como por sus buenos consejos.

A mis asesores de Tesis, Dra. Alejandra Rocha Estrada, Dra. Deyanira Quistián Martínez, Dr. Sergio Manuel Salcedo Martínez y Dr. Jorge Verduzco Martínez por contribuir con sus observaciones al mejoramiento de la tesis, por su ayuda en cada una de sus áreas de conocimiento y experiencia, finalmente, por su disposición para atender mis dudas.

A mi director de Tesis, Dr. Marco Antonio Alvarado Vázquez por aceptar dirigir este proyecto, por su ayuda para la realización de esta tesis, por su apoyo en la obtención de materiales y reactivos, por su disposición para escuchar mis inquietudes, por su incansable ayuda para la realización del proyecto y por sus buenos consejos.

A mi familia, por su apoyo para realizar mis estudios de posgrado.

ÍNDICE

1.INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Distribución Geográfica, Origen y Diversidad.....	3
2.2 Taxonomía.....	5
2.3 Importancia Económica y Social.....	7
2.4 Importancia Ecológica.....	8
2.5 Germinación.....	10
2.5.1 Semilla y anatomía.....	10
2.5.2 Desarrollo de la semilla.....	11
2.5.3 Dormancia.....	13
2.5.4 Fases de la germinación.....	15
2.6 Bancos de germoplasma.....	18
2.6.1 Calidad de la semilla.....	18
2.6.2 Almacenamiento de la semilla.....	21
2.7 Germinación en semillas de chile piquin.....	22
2.8 Fenología.....	26
2.9 Factores físicos, salinidad y precipitación que afectan la fenología.....	28
2.10 Hormonas vegetales.....	29
2.10.1 Auxinas.....	32
2.10.2 Citocininas.....	34
2.10.3 Giberelinas.....	36
2.11 Extracción y purificación de fitohormonas.....	37
2.12 Ciclo celular y fisiología de la semilla.....	38
3. JUSTIFICACIÓN.....	42

4. HIPÓTESIS.....	44
5. OBJETIVOS.....	44
5.1 Objetivo general.....	44
5.2 Objetivos particulares.....	44
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	45
6.1 Obtención de material biológico.....	45
6.2 Análisis de viabilidad de semillas.....	45
6.3 Obtención de plantas madre.....	45
6.4 Evaluación fenológica de plantas de chile piquín.....	47
6.5 Caracterización morfológica, contenido de humedad, peso de frutos y semillas.....	49
6.6. Contenido de humedad.....	51
6.7 Determinación del contenido de ácido giberélico, kinetina y triptófano en semillas por HPLC.....	51
6.7.1 Condiciones cromatográficas.....	54
6.7.2 Linealidad.....	54
6.8 Evaluación de la capacidad germinativa de las semillas.....	55
6.9 Determinación del ciclo celular por citometría de flujo.....	57
6.9.1 Preparación de la muestra.....	57
6.9.2 Lectura de muestras.....	57
6.10 Análisis estadístico.....	58
6.10.1 Caracterización morfológica, contenido de humedad, peso de frutos y semillas.....	58
6.10.2 Determinación del contenido hormonal.....	58
6.10.3 Capacidad germinativa.....	58
6.10.4 Ciclo celular.....	58
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	59
7.1 Obtención de plantas madre.....	59

7.2 Evaluación fenológica de plantas de chile piquín.....	59
7.2.1 Hojas y brotación.....	59
7.2.2 Botón y flor.....	61
7.2.3 Frutos en inicio de desarrollo y en pleno desarrollo.....	62
7.3 Caracterización morfológica, contenido de humedad, peso de frutos y semillas.....	63
7.3.1 Longitud, ancho y grosor de semillas de chile piquín.....	63
7.3.2 Longitud, ancho, peso de fruto, peso de una semilla y número de semillas por frutos de chile piquín.....	64
7.3.3 Contenido de humedad.....	65
7.4 Determinación del contenido de ácido giberélico, kinetina y triptófano en semillas por HPLC.....	66
7.4.1 Kinetina.....	66
7.4.2 Triptófano.....	69
7.4.3 Giberelinas.....	73
7.5 Evaluación de la capacidad germinativa de las semillas.....	76
7.5.1 Edad.....	76
7.5.2 Temperatura.....	78
7.5.3 Tratamiento y temperatura.....	79
7.6 Determinación del ciclo celular por citometría de flujo.....	81
8. CONCLUSIONES.....	87
9. BIBLIOGRAFÍA.....	89
10. RESUMEN BIOGRÁFICO.....	118

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Longitud, ancho y grosor de semillas de chile piquín.	64
Tabla 2	Longitud, ancho, peso de fruto, peso de una semilla y número de semillas por frutos de chile piquín.	66
Tabla 3	Resultados de la media de germinación de chile piquín (<i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i>) de 0, 3, 6, 9 y 12 meses de edad, almacenados a 4°C y 24°C, imbibidas con ácido giberélico comercial.	81
Tabla 4	Efecto de la temperatura en la edad de almacenamiento de semillas de chile piquín durante el ciclo celular.	83
Tabla 5	Valor porcentual de división celular en cada fase de ciclo celular a 4°C.	83
Tabla 6	Valor porcentual de división celular en cada fase de ciclo celular a 24°C.	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Mapa del Continente Americano. Se muestran los lugares de origen y domesticación del género <i>Capsicum</i> (Ayala 2004, Long 1998 y Mc Leod et al. 1982 en Martínez Torres 2007).	4
Figura 2	<i>Capsicum annuum</i> var. <i>annuum</i> . a, rama con hojas, flores y frutos; b, hojas; c, flor; d, corola abierta mostrando los estambres; e, pistilo sobre el pedicelo; f, anteras; g, fruto; h, corte trasnversal del fruto; i, semilla.	6
Figura 3	Ave frugívora. <i>Toxostoma curvirostre</i> . Cuitlacoche.	9
Figura 4	Ave frugívora. <i>Cardinalis cardinalis</i> . Cardenal.	9
Figura 5	Ave frugívora. <i>Mimus polyglottos</i> . Cenzontle.	9
Figura 6	Anatomía de la semilla de chile piquín. Se observan las estructuras que forman a la semilla, el embrión, endospermo y testa.	10
Figura 7	Evolución del contenido hídrico y de ABA relativo durante las diferentes fases del desarrollo de las semillas. (adaptado de Quatrano, R.S., "The role of hormones during seed development". En: <i>Plant Hormones and their role in plant growth and development</i> . P. J. Davies, ed., Kluwer, Dordrecht, pp. 494-514, 1997.	15
Figura 8	Fases de la germinación. Fase I-Imbibición, Fase II-Alta actividad metabólica y Fase III-Emergencia de la radícula.	18
Figura 9	Fenología de chile piquín. Se observan fases de desarrollo del botón floral hasta llegar a fruto.	28
Figura 10	Frutos de chile piquín. Primera colecta de frutos de chile piquín obtenidos del cultivo de plantas madre, a. Semillas de chile piquín, fueron almacenadas a 0, 3, 6, 9 y 12 meses de edad a 4°C y 24°C, b.	46
Figura 11	Tratamiento con giberelinas comerciales. Producto comercial Biogib, giberelinas comerciales que promueven la germinación, a. Imbibición de semillas de chile en 10 g de Biogib durante 24 horas, b. Pasadas las 24 hs de imbibición, las semillas son sembradas en	47

	semilleros de polietileno y en una mezcla de sustrato comercial, c.	
Figura 12	Plántulas de chile piquín. Obtención de plántulas de chile piquín en invernadero de 2 meses de edad.	47
Figura 13	Fenología de chile piquín. Se muestra selección de ejemplar de chile piquín con diferentes fenofases para ser etiquetadas y evaluadas.	49
Figura 14	Frutos para morfometría.	50
Figura 15	Morfometría de fruto de chile piquín.	50
Figura 16	Extracción de semillas para morfometría.	50
Figura 17	Morfometría de semillas.	50
Figura 18	Peso de semillas de chile piquín.	50
Figura 19	Extracción de semillas para contenido de humedad.	50
Figura 20	Paquete de 10 semillas para contenido de humedad.	50
Figura 21	Estufa de secado de semillas de chile piquín.	50
Figura 22	Liofilización. Deshidratación de semillas de chile piquín por 36 h.	53
Figura 23	Maceración. Pulverización de semillas de chile piquín para extracción de hormonas vegetales.	53
Figura 24	Extracción. Extracto hormonas vegetales realizada con metanol 80%.	53
Figura 25	Sonicación. Homogenización de extracción de hormonas mediante sonicador.	53
Figura 26	Extracción en fase sólida en columna C18. Extracción de hormonas vegetales por afinidad química con columna de gel sílica.	54
Figura 27	Análisis de extractos de fitohormonas por HPLC. Identificación de giberelinas, triptófano y kinetina.	54
Figura 28	Viabilidad de semillas. Imbibición de semillas de chile piquín en tretazolio para realizar prueba de viabilidad.	56
Figura 29	Corte histológico en semillas de chile piquín de 3 meses de edad. Se observa que se tiñen los tejidos de almacenamiento y embrión, lo que indica que las	56

semillas son viables.

Figura 30	Fenología de brotes y hojas adultas. Comportamiento fenológico de brotación y hojas adultas en plantas de chile piquín de enero a diciembre 2016.	60
Figura 31	Fenología de botones y floración. Comportamiento fenológico de botones y término de floración en plantas de chile piquín de enero a diciembre 2016.	62
Figura 32	Fenología de frutos. Comportamiento fenológico de frutos en inicio de desarrollo y frutos en pleno desarrollo en plantas de chile piquín de enero a diciembre 2016.	63
Figura 33	Concentración de kinetina en semillas de chile piquín. Los datos son representados como media \pm desviación estándar. El contenido de kinetina es significativo ($p \leq 0.05$).	67
Figura 34	Concentración de triptófano en semillas de chile piquín. Los datos son representados como media \pm desviación estándar. El contenido de triptófano es significativo ($p \leq 0.05$).	70
Figura 35	Concentración de giberelinas en semillas de chile piquín. Los datos son representados como media \pm desviación estándar. El contenido de giberelinas es significativo ($p \leq 0.05$).	74

RESUMEN

El género *Capsicum* es una hortaliza de importancia económica a nivel mundial, en México genera grandes aportaciones económicas en el sector agrícola, por ello la importancia del cultivo de variedades que permitan abrir nuevas áreas de oportunidad comercial tanto a nivel nacional como internacional. Una de estas variedades es el chile piquín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) cuyo aprovechamiento se reduce únicamente a poblaciones silvestres, ya que se han hecho varios intentos de cultivarla de manera intensiva teniendo como resultado bajo porcentaje de germinación debido a que la semilla presenta dormancia fisiológica no profunda, rasgo característico de especies que aún no han sido domesticadas. Sin embargo, a pesar de las investigaciones realizadas en esta especie, no se ha podido aprovecharla a gran escala, por ello en este estudio se propuso estudiar el efecto de la temperatura (4°C y 24°C) y edad de almacenamiento (0, 3, 6, 9 y 12 meses) en la germinación de semillas de chile piquín tratadas con ácido giberélico comercial (Biogib). Asimismo, se evaluó el contenido de hormonas vegetales como giberelinas, auxinas y citocininas presentes en la semilla y que intervienen en el proceso de germinación, así como su efecto en el proceso de división celular, ello para corroborar la relación fisiológica de estas con los procesos de división celular que intervienen durante el proceso de germinación, para así identificar la edad ideal de cultivo de semilla almacenada tanto a 4°C como a 24°C. Para evaluar el contenido de hormonas vegetales se utilizó la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) y para analizar el ciclo de división celular se utilizó el Citómetro de Flujo. Los resultados obtenidos de los 3 tipos de ensayos realizados (germinación, contenido de hormonas vegetales y ciclo celular) indican que es a los 9 meses de almacenamiento de la semilla cuando se obtiene mayor porcentaje de germinación. Este resultado se pudo corroborar con los datos obtenidos con el HPLC pues es a esta edad cuando se observó que hubo mayor contenido de giberelinas, auxinas y citocininas y el análisis de citometría de flujo mostró que a los 9 meses de edad de la semilla había mayor porcentaje de división celular. Estos resultados permiten concluir que a los 9 meses de edad la semilla ha alcanzado madurez fisiológica, reflejado en el alto contenido de hormonas que promueven la germinación y en el proceso de división celular que se encuentra muy activo a esta edad, por lo tanto, se sugiere que los 9 meses de almacenamiento de la semilla es la edad ideal en la que se puede obtener mayor porcentaje de germinación.

ABSTRACT

The genus *Capsicum* is an economically important vegetable around the world, in Mexico it produces great amount of money to the agricultural area, therefore it is important the growth of varieties that let open new areas of opportunity in the national and international commerce. One of these varieties is cayenne pepper (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) which exploitation is reduced to just wild populations since there has been many attempts to cultivate it in an intensive way having as a result low percentage of germination since the seed shows non-deep physiological dormancy, a feature that has wild species. However, in spite of the research that has been done in this species, it has not been exploited as it should, therefore in this study we propose to study the effect of temperature (4°C and 24°C) and the age of storage of cayenne pepper seeds (0, 3, 6, 9 and 12 months of age), soaked in comercial gibberellic acid (Biogib) on germination, and the phytohormone content such as gibberellins, auxins and kinetin that are in the seeds and that intervene in the process of germination, we also study the effect of the cell división process, with the objective of corroborating the physiological relationship of phytohormones with the cell division processes that take place during germination, in order to identify the ideal age of seed crop stored at 4°C and 24°C. To evaluate the phytohormone content we used the High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) and to analize the cell cycle división we used the flow cytometer. The results we got through the use of 3 types of bioassays (germination, phytohormone content and cell cycle) show that it is at 9 months of storage when the seed performs better at germination, this result could be verified with the data gotten with the use of HPLC because it was at this age when we observed a higher amount of gibberellins, auxins and kinetine and the flow cytometer analysis showed that at 9 months of age the seed shows higher cell division, these results let us conclude that at 9 months of age the seed has reached physiological maturity, reflected on the high content of phytohormones that promote germinationand the process of cell división that is very active at this age, therefore we suggest that at 9 months of seed storage is the ideal age to cultivate the seed and get higher percentage of germination.

1. INTRODUCCIÓN

Debido a su ubicación geográfica, México ha sido centro de origen de especies y variedades florísticas, entre ellas, especies de importancia económica (Pickersgill 1997) como es el caso del chile (*Capsicum annuum*). En el norte del país la especie silvestre de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) ha tenido mucha demanda comercial debido a su sabor, forma, tamaño y escasa irritación al tracto intestinal que causa al degustarlo (Pickersgill et al. 1979). Sin embargo, esta especie no se ha podido aprovechar en cultivos intensivos debido a que presenta dificultad para su germinación, ya que la semilla posee dormancia fisiológica no profunda (Baskin y Baskin 2001), la cual es una condición natural en especies vegetales que aún no han sido domesticadas (Perry y Kent 2007). Debido a ello, esta especie se puede considerar como área de oportunidad en el área de investigación y aprovechamiento como recurso natural a nivel comercial, ya que actualmente se obtiene de manera silvestre, arrancándose toda la planta para extraer los frutos lo que ocasiona disminución de las poblaciones naturales, escasa recuperación natural de las poblaciones y finalmente, puede conducir a la extinción (Araiza-Lizarde et al. 2011).

Algunos investigadores mencionan que la dormancia puede ser condicionada tanto por características físicas como fisiológicas en la semilla (Nikolaeva 1967). Existe una clasificación de los diferentes tipos de dormancia y metodologías para superarlas propuestas por Baskin y Baskin (2004). La dormancia fisiológica se divide en tres niveles: profunda, intermedia y no profunda. Cabe mencionar que los factores fisiológicos que intervienen en el proceso de germinación son de carácter bioquímico como es el caso de las hormonas vegetales que intervienen durante todo el ciclo biológico de la planta, tanto en su crecimiento como en su desarrollo.

Muchos estudios se han realizado respecto a la germinación de chile piquín, obteniendo porcentajes de germinación muy bajos, el INIFAP (2004) reportó que usando el producto comercial Biogib se estimula la germinación.

Asimismo, existe una relación intrínseca entre la biosíntesis de proteínas y la división celular, pues conforme la célula vegetal se está dividiendo, se van sintetizando fitohormonas que posteriormente tendrán una función en el crecimiento y desarrollo de la célula (Leszek 1997).

Por todo ello, en este proyecto se estudió la dormancia del chile piquín a nivel fisiológico, midiendo el éxito de germinación de semillas provenientes de frutos maduros de 0, 3, 6, 9 y 12 meses de almacenamiento, tanto a 4°C como a 25°C. Correlacionando los resultados con los niveles hormonales mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con el crecimiento y desarrollo celular detectados mediante citometría de flujo (CF) de embriones de chile piquín. Ello, con la finalidad de empatar los resultados provenientes de germinación, HPLC y CF e identificar la relación a nivel fisiológico de la interacción de las hormonas vegetales en diferentes edades de maduración de la semilla y su expresión en la germinación.

2. ANTECEDENTES

2.1 Distribución Geográfica, Origen y Diversidad

La zona del Amazonas entre Brasil, Bolivia y Argentina es considerada como sitio de origen y diversidad del género *Capsicum* (McLeod et al. 1982) y según Esbaugh (1993) la región de Mesoamérica y Centroamérica son centros de diversidad para este género (Figura 1). De acuerdo a Pickersgill (1971), *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* es considerado el ancestro silvestre de las especies cultivadas. Respecto a esta especie, su distribución abarca desde el suroeste de los Estados Unidos, México, Centroamérica, hasta el noroeste de Sudamérica (Pickersgill 1971; D'Arcy y Esbaugh 1974), en altitudes bajas de Perú. Se le puede encontrar tanto en áreas desérticas como semidesérticas, por ejemplo, en matorrales xerófitos; tropicales y subtropicales como selva baja caducifolia. Se distribuye en todo el territorio mexicano, en el pacífico se le puede encontrar desde la costa de Sonora hasta Chiapas y por el Golfo de México, se distribuye desde Tamaulipas hasta Quintana Roo (Tewksbury et al. 1999). Sin embargo, se le puede encontrar en áreas fragmentadas, registrando su existencia como vegetación secundaria en la orilla de los caminos, huertos y potreros. Usualmente, se encuentra asociado a plantas nodrizas como leguminosas, cactáceas, opuntias y a terrenos profundos con pendientes menores a 8%, buen drenaje y alto contenido de materia orgánica, en suelos tipo vertisol y rendzinas, de textura migajón-arcillosa (Bañuelos et al. 2008). Las plantas de chile piquín crecen en hábitats con precipitaciones anuales de más de 500 mm y temperatura media anual entre 21 y 24°C, donde las heladas son escasas. Según Nabhan et al. (1990) a esta especie se le puede encontrar en la orilla de arroyos y cerca de cañones. Altitudinalmente, se ha reportado desde elevaciones bajas hasta los 1,000 m de altura (D'Arcy y Esbaugh 1974); sin embargo, en los estados de Querétaro y Coahuila se ha encontrado a 1,100 m y 1,300 m de altura, respectivamente y en Oaxaca. López y Castro (2006) lo reportan a 1,800 msnm. Según Villalón et al. (2013), la temperatura mínima para su crecimiento es 15°C y la temperatura máxima 30°C, creciendo mejor bajo condiciones de humedad relativa de 75 a 100%.

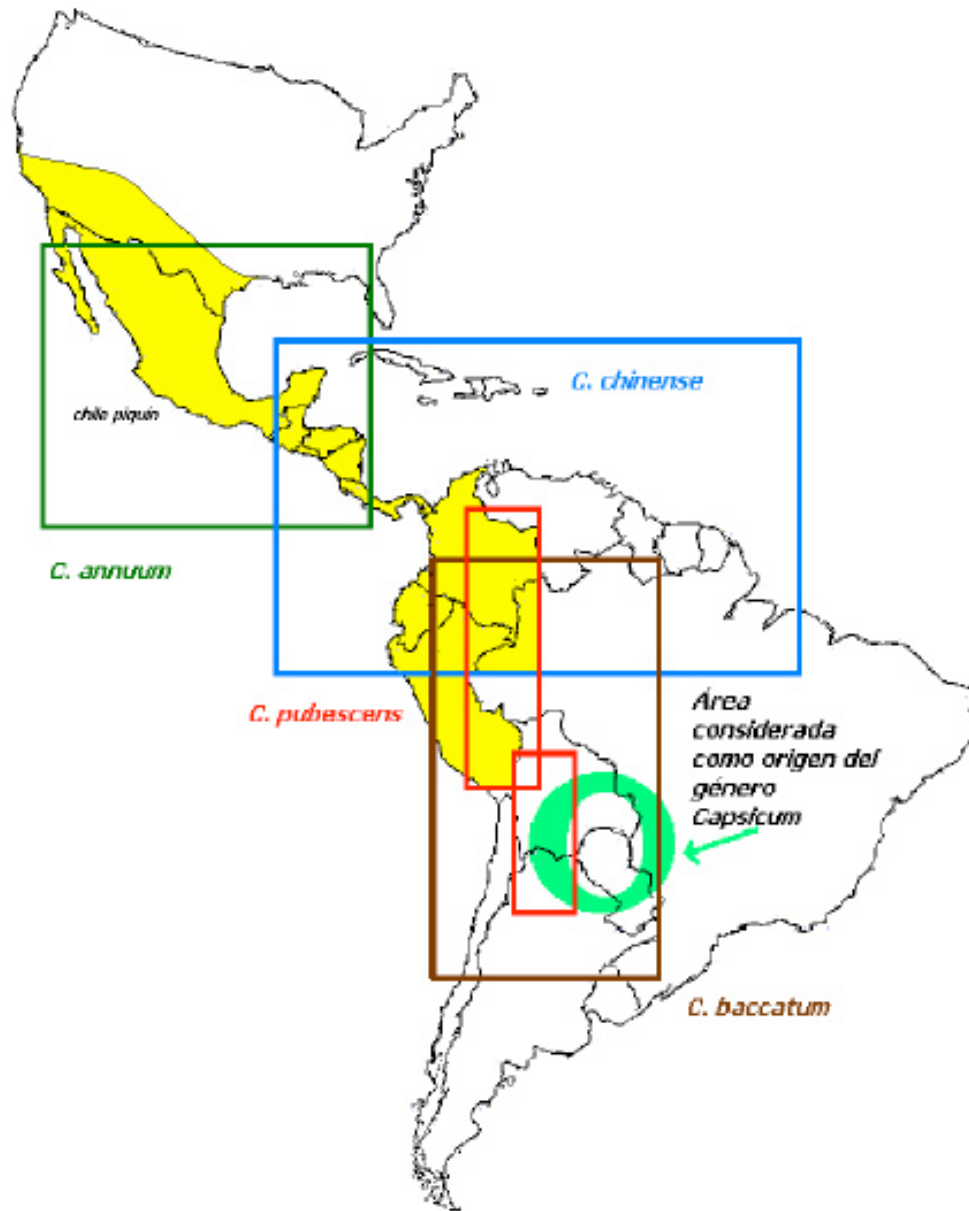


Figura 1. Mapa del Continente Americano. Se muestran los lugares de origen y domesticación del género *Capsicum* (Ayala 2004, Long 1998 y Mc Leod et al. 1982 en Martínez Torres 2007).

2.2 Taxonomía

El género *Capsicum* pertenece a la familia Solanaceae, se caracteriza porque sus semillas tienen forma de disco, planas y comprimidas y el embrión es curvo (Figura 2). Asimismo, pertenece a la subfamilia Solanoideae y a la tribu Solaneae, la cual abarca 18 géneros y 1250 especies (D'Arcy et al. 1991).

El chile piquín es una planta herbácea o trepadora, que puede encontrarse de manera arbustiva, llegando a alcanzar los 4 m de altura y 1.5 m de diámetro, perenne o de vida corta, glabra o raramente pubescente; presenta una flor por nudo, raramente 2-3; pedicelos delgados y alargados; cáliz con dientes ausentes o rudimentarios; corola de color blanco, raramente verdosa; anteras de color violeta a azul, filamentos cortos; frutos verdes con coloraciones púrpura oscuro a negro cuando están inmaduros, y rojos cuando maduros, erectos, decíduos, pequeños, globosos u ovoides, de 5-10 mm de diámetro, raramente excediendo 15 mm en longitud; semillas de color crema a amarillo (D'Arcy y Eshbaugh 1974; Hernández-Verdugo et al. 1999), de 2.5 a 3 mm (Coronado et al. 2013).

La denominación de la variedad de la forma silvestre ha presentado muchas discrepancias entre los investigadores a lo largo de los tiempos, por ejemplo, Shinnars (1956) presentó el nombre de *C. annuum* var. *minus*, mientras que Smith y Heiser (1957) la denominaron *C. annuum* var. *baccatum*, Heiser (1964) propuso el nombre de *C. annuum* var. *minimum*, en 1973 (D'Arcy y Eshbaugh) la nombraron *C. annuum* var. *aviculare* y finalmente en 1975 (Heiser y Pickersgill) le denominaron *C. annuum* var. *glabriusculum*, siendo este último nombre el más común en la actualidad, sin embargo, algunos investigadores se refieren a esta especie como *C. annuum* var. *aviculare*.

Cabe mencionar que el Sistema Integrado de Información Taxonómica de la Comisión Nacional de Biodiversidad (CONABIO 2006) y la Red de Información de Recursos de Germoplasma (GRIN 1997) definen que *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* otorgado por (Dunal) Heiser y Pickersgill es el nombre taxonómico aceptado para esta especie.

El nombre común del chile piquín recibe diferentes denominaciones, en relación con su área de su distribución geográfica, así, se le puede encontrar con los títulos de piquín, chiltepín (Laborde y Pozo 1982), quipín, de monte y silvestre, pájaro pequeño, chile

mosquito, diente de tlacuache (Long 1998). Esta variedad presenta ecotipos muy distintos, los cuales se pueden observar en la morfología de los frutos y en su expresión genética (Laborde y Pozo 1982). Long et al. (1999), mencionan que existen dos ecotipos, aquellos que se encuentran en el norte del país llamados chiltepines de morfología redondeada u ovalada; y los que se encuentran en el centro y sur del país llamados piquines y de forma alargada.

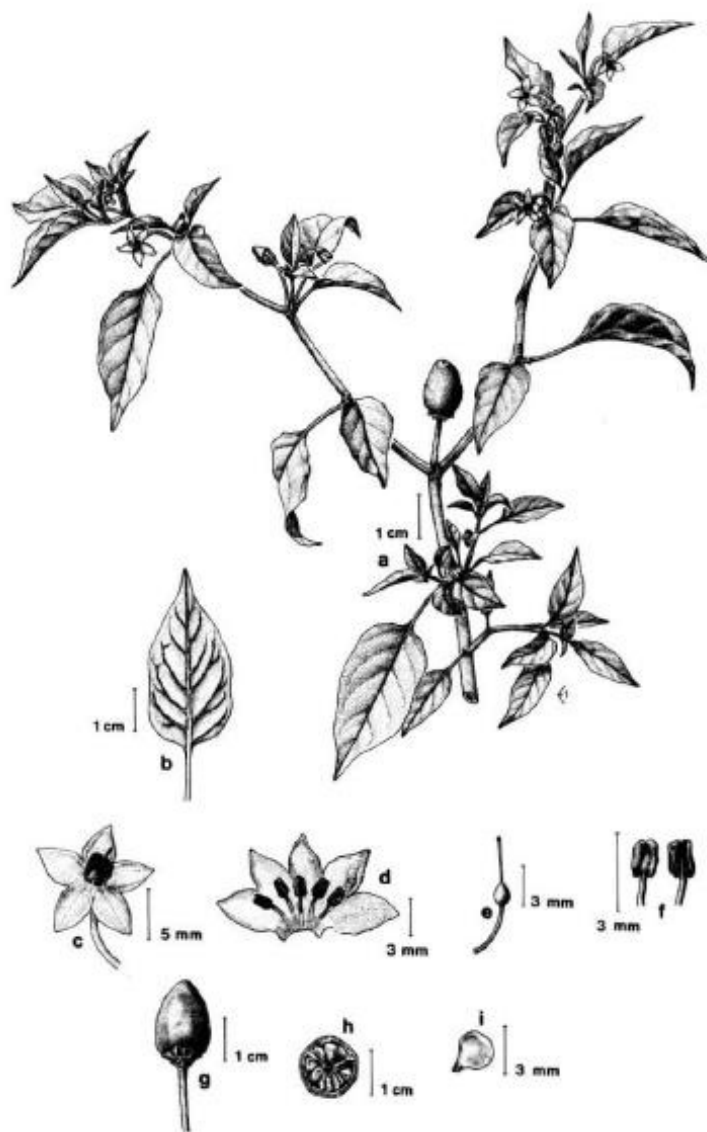


Figura 2. *Capsicum annuum* var. *annuum*. **a**, rama con hojas, flores y frutos; **b**, hojas; **c**, flor; **d**, corola abierta mostrando los estambres; **e**, pistilo sobre el pedicelo; **f**, anteras; **g**, fruto; **h**, corte trasnversal del fruto; **i**, semilla. Ilustración por Edmundo Saavedra, basada en los ejemplares *Dorantes* 3179 y *Calzada* 3238.

2.3 Importancia Económica y Social

El chile es una hortaliza que ha formado parte de la dieta mexicana desde tiempos ancestrales siendo *Capsicum annuum* la variedad más importante y de mayor diversidad en nuestro país (Long-Solís 1986). Los chiles son una especie hortícola de importancia económica a nivel mundial, ya que se consumen como condimentos, vegetales o se usan en el área farmacéutica en la elaboración de medicamentos (Yamamoto y Nawata 2005). Según la CONAPROCH (2005) México es el segundo productor a nivel mundial de chile.

El chile piquín se aprovecha de manera temporal por los lugareños que habitan en zonas cercanas donde crece de manera natural o silvestre, los pobladores lo colectan para autoconsumo o para venta, ya sea fresco, estando el fruto verde (inmaduro) o rojo (maduro), seco o para curtirlo. Representando una fuente temporal de ingresos durante su cosecha y colecta. Así se tiene que en el estado de Tamaulipas puede llegar a significar el 46% del total del ingreso familiar. De igual forma, el 15% de la población de esta misma región llega a considerarlo como empleo temporal (mujeres y niños).

Pedraza-Robles y Gómez (2008) mencionan que debido a su sabor y pungencia el chile piquín llega a tener mayor demanda que otras variedades de chile, encontrándolo en el mercado desde \$40 hasta \$800 por kg. Sin embargo, en el noroeste del país, los 250 g llegan a alcanzar un valor comercial de \$100. En los mercados se llega a encontrar a \$5 o \$10 la medida que puede contener 46 g aproximadamente.

Según Medina-Martínez et al. (2006), en época de sequía, el precio del fruto seco puede variar de \$400 a \$450 por kg. Por cada kilogramo de fruto fresco maduro (rojo) se pueden obtener de 80 a 120 g (gramos) de semilla y cada gramo contiene de 200 a 300 semillas.

En el estado de Sonora, Robles (2009) entrevistó a pobladores que se dedican a la pesca de chile piquín y encontró que obtuvieron ganancias de hasta \$18,200,000.00 con una producción de 70,000 kg a \$260 por kg. Por lo que este recurso forestal no maderable es de importancia económica para esta región del país en época de colecta. Según Morales-Cuén (1986) el fruto tiene demanda en presentación seca, verde, encurtido y en salsas.

Montoya-Ballesteros (2009) menciona que las principales características que se deben considerar para el aprovechamiento de esta especie es el grado de pungencia, color y pH para elaborar salsas de buena calidad. Este mismo autor junto con Robles (2009) sugieren que para mejorar la calidad del fruto es conveniente tener un manejo apropiado del fruto en el momento de la colecta y proceso de deshidratación.

Las diversas especies y variedades del género *Capsicum* se encuentran en el mercado en diferentes presentaciones fresco, deshidratado, especia, en conserva, y en la industria se le encuentra como fuente de vitamina C, proteína, fibra, minerales (Krishna De 2003), de colorante natural o ácido ascórbico, o como producto farmacéutico o cosmético, (Meléndez 1998). Los carotenoides y capsaicinoides son sustancias químicas que distinguen a los chiles de otras hortalizas pues los carotenoides son pigmentos de gran valor nutricional y dan el color rojo, mientras que los capsaicinoides dan la pungencia (Pérez-Gálvez et al. 2003). De acuerdo a la opinión de los consumidores, el consumo de chile piquín no irrita el estómago en comparación con el chile serrano y jalapeño que causan acidez estomacal (Montes et al. 2006).

2.4 Importancia Ecológica

Aunado a formar parte de la vegetación típica del matorral espinoso, la función ecológica de la planta de chile piquín es fungir como fuente de alimento ya que, debido a su color verde o rojo brillante, forma ovalada y tamaño pequeño resulta ser atractiva para las aves silvestres como el huitlacoche (*Toxostoma curvirostre*), cardenal (*Cardinalis cardinalis*) y ceniztonle (*Mimus polyglottos*), que son los principales dispersores de la semilla de esta especie (Figuras 3, 4 y 5). De esta manera forma parte de la cadena alimenticia entre estas aves y la víbora de cascabel (*Crotalus atrox*) y la víbora negra (*Drymarchon corais*). Se ha reportado que, al pasar la semilla por el tracto digestivo del ave, la semilla es escarificada, promoviendo de esta manera su germinación (Bañuelos et al. 2008). Un ejemplo del vínculo etnoecológico se observa en el estado de Tabasco, donde los indígenas chontales cuidan al ave denominada pistoque (*Pitangus sulphuratus*), la cual se alimenta de frutos de chile piquín, facilitando de esta forma la dispersión de la semilla, ayudando a aumentar las poblaciones naturales y por ende los frutos, los cuales son aprovechados por los chontales (Vásquez 1996).



Figura 3. Ave frugívora de chile piquín
Toxostoma curvirostre
Huitlacoche



Figura 4. Ave frugívora de chile piquín
Cardinalis cardinalis
Cardenal



Figura 5. Ave frugívora de chile piquín
Mimus polyglottos
Cenzontle

Besnier (1989), menciona que las tasas bajas de germinación tienen un fundamento ecológico pues de esta manera las semillas pueden perpetuar la especie.

2.5 Germinación

2.5.1 Semilla y anatomía

Las semillas dentro del ciclo de vida de las plantas son la unidad de dispersión y perpetuación de la especie. En especies de reproducción sexual, la semilla se forma a partir de la fecundación de los gametos masculinos y femeninos. Las semillas constan de tres estructuras principales, el embrión que dará origen a una planta, el endospermo que contiene nutrientes para las primeras etapas de desarrollo del embrión y la testa que sirve de protección a la semilla (Blasiak et al. 2006; Figura 6).

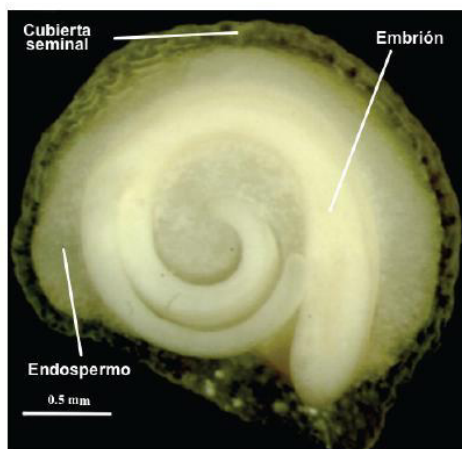


Figura 6. Anatomía de la semilla de Chile piquín en donde se observan las estructuras que forman a la semilla, el embrión, endospermo y testa.

El embrión está formado por la radícula o raíz, el hipocótilo o tallo y la plúmula o yema. En las especies dicotiledóneas como es el caso del Chile, hay dos cotiledones o primeras hojas insertadas en la parte superior del hipocótilo, mientras que en las monocotiledóneas hay un solo cotiledón terminal y se encuentra en las gramíneas.

Sustancias de reserva o endospermo, está constituido por carbohidratos, lípidos y proteínas en diversas proporciones. Se pueden almacenar en un tejido especializado llamado endospermo (gramíneas y lilífloras), en la nucela que forma el perisperma

(carofiláceas y piperáceas), en los cotiledones que se engruesan y llenan toda la semilla (leguminosas).

Respecto a la cubierta seminal o testa, se deriva de los tegumentos, envuelve y protege al embrión y endospermo. Puede estar cubierta por una cutícula. La testa es delgada y membranosa y sus paredes celulares gruesas y endurecidas.

2.5.2 Desarrollo de la semilla

La formación de la semilla incluye tres etapas: 1) histodiferenciación, 2) producción de reservas y 3) tolerancia a la desecación (Taiz y Zeiger 2010). La histodiferenciación ocurre después de la polinización cuando el óvulo se activa para iniciar el desarrollo de la semilla: embrión, endospermo y testa. De acuerdo a Bradford (2004) el crecimiento de la semilla se da por la división y alargamiento celular. En semillas de chile, el óvulo tiene un embrión campilotropo es decir que tiene forma curva, el eje embrionario tiene dos cotiledones unidos al hipocotilo, la radícula esta dirigida hacia la región del hilio y la plúmula o epicótilo, de donde se forman las primeras hojas. Las semillas tienen forma hemidiscoidal, de superficie lisa (Nuez et al. 2003). Posteriormente, se acumulan compuestos de reserva en tejidos de almacenamiento, por lo que el contenido hídrico de la semilla disminuye (Bradford 2004). No existe relación simplástica entre la cubierta seminal, el embrión y el endospermo, por lo que los tejidos embrionarios reciben todos los nutrientes vía apoplástica (Patrick y Offler 2001). Los compuestos de reserva en la semilla son carbohidratos, proteínas y lípidos (Taiz y Zeiger 2010). El más abundante de estos compuestos en las semillas son los carbohidratos los cuales se encuentran en forma de almidón, sin embargo, hay semillas que acumulan otro tipo de carbohidratos como hemicelulosa en las paredes celulares, en semillas maduras se encuentran sacarosa, rafinosa, estaquiosa, fructosa y glucosas. Estos carbohidratos se utilizan durante la respiración, seguida de la imbibición, participando durante el proceso de desecación y mantenimiento de la longevidad durante el almacenamiento (Peterbauer y Richter 2001). Respecto a los lípidos estos se almacenan en forma de triacilglicéridos que se encuentran en forma de oleosomas o cuerpos lipídicos dentro de la célula (Bradford 2004). Las proteínas se almacenan dentro de cuerpos proteicos y son sintetizados durante la etapa de acumulación de reservas, la cual es controlada por varios genes que participan en la

síntesis de proteínas (Bewley y Black 2000). Las proteínas de almacenamiento también se encuentran en la radícula de la plántula y en el tallo (Tiedemann et al. 2000). La movilización de las proteínas de almacenamiento no tiene lugar al mismo tiempo en diferentes partes de la semilla. Las otras enzimas, que son activadas durante la movilización de proteínas son carboxipeptidasa y aminopeptidasa. Entre los parámetros más importantes que controlan el proceso de dormancia en la semilla son cambios a nivel molecular, incluyendo alteraciones hormonales y protéicas y el balance entre ABA y GA (Graeber et al. 2010).

En la semilla de chile se puede observar que el endospermo rodea al embrión y es la principal fuente de alimento. El endospermo contiene carbohidratos y proteínas que son posteriormente catalizados para liberar energía metabólica que se utiliza para la emergencia del embrión durante la germinación (Cochrane 2000).

Respecto a la tolerancia a la desecación, permite la dispersión de la semilla y su sobrevivencia durante largos períodos (Bradford 2004). Esta característica está dada por proteínas y carbohidratos específicos que son sintetizados en la primera fase de desarrollo, cuando el contenido de ABA es elevado, se acumula durante la deshidratación, alcanzando el máximo en la madurez, por lo que se conocen como proteínas abundantes en embriogénesis tardía (proteínas LEA). Estas proteínas se componen de aminoácidos hidrofílicos que las hacen solubles en agua y resistentes a la desnaturalización causadas por altas temperaturas (Bewley y Black 2000). Vidigal et al. (2009), observaron que en semillas de chile dulce se producen gran cantidad de proteínas LEA a los 60 y 70 dda, después que el fruto ha madurado y se asocia a la madurez fisiológica de la semilla cuando esta empieza a ser tolerante a la deshidratación.

Por otra parte, el carbohidrato trealosa tiene un papel importante en el mantenimiento de la desecación ya que interviene durante el estrés hídrico, ya que le permite reemplazar el agua en la membrana celular y así mantener su estructura. También mantiene la estructura de las proteínas durante la deshidratación evitando así que la proteína pierda su naturaleza y función (Buitink et al. 2002).

A medida que la semilla se desarrolla aumenta su tamaño y peso seco hasta un máximo, que es cuando presenta todas las estructuras características y ha alcanzado la capacidad

de germinar. Este punto se conoce como madurez fisiológica de la semilla y ya no habrá más cambios morfológicos después de este punto. Cuando se alcanza la madurez fisiológica, el contenido de humedad es entre 35 y 55%. Aunque la mayoría de las semillas no están listas para ser cosechadas a la madurez fisiológica, este es el momento de su máxima calidad (CIAT 1983).

Es importante que la semilla pase por un período de desecación durante el desarrollo fisiológico, esto permite que las reservas de nutrientes sean condensadas, de esta manera las semillas de algunas especies pueden ser diseminadas por el viento. Por otra parte, las actividades del embrión disminuyen, lo que permite a la semilla seguir viva por años sin disminuir su viabilidad (McCarty 1995). Cuando la deshidratación oscila de 85% hasta 4.5 a 10% se activan mecanismos para proteger a las semillas contra la deshidratación, ya que la pérdida de agua puede ser mortal para los tejidos.

2.5.3 Dormancia

Las semillas pasan por un periodo de latencia, es decir, no pueden germinar aun cuando las condiciones ambientales sean favorables. Durante la evolución, las semillas se tuvieron que adaptar a las condiciones naturales de su hábitat, desarrollándose así semillas con latencia (toleran deshidratación fuerte) y semillas recalcitrantes (no toleran deshidratación excesiva) que germinan poco después de caer de la planta madre (Pennington, 2005). Respecto a la latencia, en hábitats de escasa precipitación, el período de desarrollo y dormancia es ajustado al ciclo anual del clima, de tal forma que la época de dormancia coincide con la de sequía o invierno, cuando las temperaturas son bajas (Romberger 1963). Bosland y Votava (2000), mencionan que las especies de Chile que aún no han sido domesticadas presentan dormancia y aseguran que se puede obtener mayor porcentaje de germinación cuando la semilla alcanza la madurez fisiológica en el fruto.

Por su parte Champagnat (1989) menciona que la dormancia se debe a factores morfogenéticos en el cual las hormonas están involucradas. Lewak y Rychter (1975) estudiaron las semillas de manzano y sugieren que la dormancia es un fenómeno dinámico y complejo ya que hay mucha actividad enzimática, muchas reacciones de

anabolismo y catabolismo y las hormonas vegetales son sintetizadas en bajas concentraciones durante etapas de desarrollo muy específicas en la dormancia.

De acuerdo con Faust (1989) se debe considerar los siguientes factores en la fisiología de la dormancia: balance hormonal, hidratación de células, estado de las membranas celulares, potencial anabólico de las yemas y el reloj biológico que cuenta el tiempo necesario para el preenfriamiento. En semillas de manzano la concentración de giberelinas aumenta en los inicios de la endolatenia, posteriormente decrece.

Leszek (1997) menciona que se han hecho estudios en donde se sabe que los cambios hormonales durante la endolatenia son complejos y dinámicos, activándose en diferentes etapas de este fenómeno que se presenta en semillas, sin embargo, el comportamiento de la endolatenia puede variar según la especie así como variación en la concentración de hormonas, así pues, se tiene el ejemplo de que la adición de giberelinas exógenas en ciertas especies de plantas disminuye el período de latencia pero en *Dioscorea cayenensis* al agregar GA₃ aumenta el período de latencia.

Durante el desarrollo de la semilla se diferencian tres períodos: temprano, medio y tardío (Rock y Quatrano 1995). El periodo temprano se distingue por que inicia la embriogénesis, aumenta su masa, el contenido de agua es alto y abundan las giberelinas, citocininas y auxinas y se almacenan los nutrientes en los cotiledones o en el endospermo (Figura 7). En específico, las citocininas son más abundantes cuando el endospermo está acuoso, esta hormona es importante porque interviene en la división celular, mientras que el embrión es provisto de giberelinas (Sponsel 1983). Cabe mencionar, que en el inicio del desarrollo de la semilla el contenido de ABA es mínimo (Rock y Zeevaart 1993). Durante el período medio, el contenido de auxinas, giberelinas y citocininas son abundantes, sin embargo, el contenido de ABA comienza a aumentar y se empiezan a acumular las reservas. En el período tardío el nivel de todas las hormonas baja gradualmente, incluso los de ABA. Leszek (1997) menciona que, en el período medio, es cuando la semilla entra en la maduración, hay mayor cantidad de nutrientes, alto contenido de agua es entonces cuando se inician las actividades metabólicas que no permiten la germinación antes de tiempo, finalmente en el período tardío la semilla se deshidrata y la semilla entra en latencia (Figura 7).

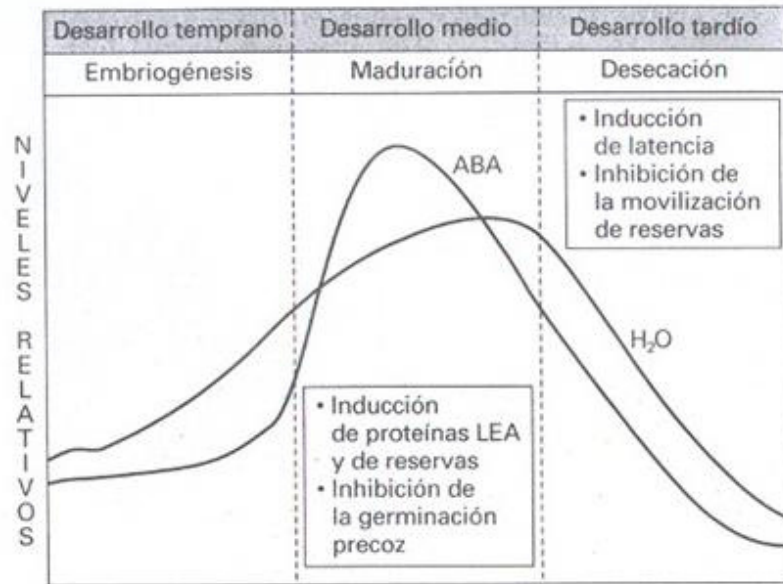


Figura 7. Evolución del contenido hídrico y de ABA relativo durante las diferentes fases del desarrollo de las semillas (adaptado de Quatrano, R.S., “The role of hormones during seed development”. En: *Plant Hormones and their role in plant growth and development*. P. J. Davies, ed., Kluwer, Dordrecht, pp. 494-514, 1997).

Para que la semilla salga de la latencia, es necesario que se mantenga en un ambiente húmedo y a bajas temperaturas, cuando se termina el período de latencia la semilla empieza a absorber agua. El órgano de almacén pasa por cambios fisiológicos como disminución en el crecimiento, formación de tejido parenquimático, almacenamiento de almidón, aceite, proteínas, carbohidratos e inducción de dormancia y en estos cambios las hormonas participan. Cuando se da la germinación, la semilla comienza a imbibir agua, se rompe la testa y emerge la radícula, la plántula en desarrollo utiliza las reservas de nutrientes para su desarrollo (Rock y Quatrano 1995). Asimismo, cuando los tejidos maduran y envejecen, las GA forman conjugados, estos conjugados en las semillas se consideran material de reserva y son almacenados en altas concentraciones.

2.5.4 Fases de la germinación

La germinación comienza con la entrada de agua a la semilla, con lo cual se reactivan las actividades metabólicas (respiración, síntesis de proteínas) y termina con el crecimiento

de la radícula que emerge al exterior. Para ello se utilizan los nutrientes de reserva y se desarrollan sistemas enzimáticos graduales que le permitirá sintetizar sus propios alimentos. La rehidratación de la semilla permite el aumento de volumen debido a los coloides presentes en ella, e involucra los procesos de imbibición y ósmosis. Uno de los primeros procesos que se activan es la respiración, destinada a entregar la energía necesaria para la ruptura y movilización de reservas que serán utilizadas en el eje embrionario para crecer (Bewley y Black 1978).

La germinación incluye tres fases (Figura 8): Fase I-Imbibición. En esta etapa se producen alteraciones estructurales importantes en la membrana. En la semilla seca los compuestos fosfolipídicos se encuentran en la fase de gel lo que produce una salida mayor de solutos y de metabolitos de bajo peso molecular hacia la solución que rodea la semilla. Sin embargo, al rehidratarse la membrana, los compuestos adquieren una forma cristalina, evitando la salida de solutos. En esta etapa las enzimas y estructuras deshidratadas se reactivan. Se requieren varias horas antes de que el metabolismo alcance su rendimiento. En este período existe una degradación o reemplazo de estructuras dañadas. Asimismo, se inicia la síntesis de ADN para reparar estructuras dañadas durante la etapa de maduración, deshidratación y la síntesis de ADN mitocondrial (Bewley 1997). A la síntesis de nuevas proteínas, ocurre la degradación de otras, como las proteínas LEA, ya existentes en la semilla seca. El metabolismo cambia de uno de reserva a uno de germinación, en ese momento ocurre la transcripción de nuevo RNAm para la síntesis de proteínas necesarias para el almacenamiento del metabolismo celular (Bewley 1997). Fase II-Activación metabólica. La semilla deja de absorber agua y se reduce la respiración. En esta fase ocurre la síntesis, a partir de las reservas disponibles, de nuevas estructuras y compuestos necesarios para las fases siguientes del desarrollo. Se activan los genes que intervienen en la elongación y división celular, asimismo se activan las acuaporinas que son proteínas de las membranas implicadas en la absorción de agua; xiloglucano endotransglicosilasa endotransferasa que mediante la hidrólisis de los componentes de la pared celular afloja su trama; expansinas que rompen los enlaces hidrógeno de las paredes celulares; y pectina metilesterasa que modifica la pectina de las paredes celulares. Fase III-Crecimiento de la radícula. Para ello la radícula debe romper el endospermo y la testa de

la semilla, con ello se marca el fin de la germinación y se inicia el crecimiento de la plántula, se debilitan las estructuras que rodean la punta de la raíz. En las semillas imbibidas, el potencial de presión del embrión presenta valores relativamente negativos, por lo que el potencial hídrico rara vez constituye un factor limitante en la germinación (Welbaum et al. 1998). En el chile dulce y tomate, es en el endospermo y no en el embrión, el que determina la germinación, aún bajo potenciales hídricos negativos. En las horas previas a que la radícula emerja, la fuerza necesaria para penetrar los tejidos que rodean la radícula disminuye rápidamente. Este debilitamiento en las estructuras es producido por la degradación o separación de las paredes celulares del endospermo, compuesto principalmente por polímeros, los cuales son degradados por las enzimas endo β mananasa, α -galactosidasa y β -manosidasa, producidas y secretadas por el mismo endospermo. La actividad de estas tres enzimas aumenta durante la imbibición, y en el caso de la β -mananasa, existe una correlación lineal entre el incremento de su actividad y la disminución de la resistencia del endospermo a la penetración (Leubner-Metzer 2003). Las giberelinas tienen un papel importante en la activación de las enzimas hidrolasas que permiten la emergencia de la radícula. Durante esta fase, la expansión de las células del embrión requiere de auxinas, el suministro de las formas activas de esta hormona proviene de conjugados del ácido indol acético (IAA) almacenados en la semilla seca, los cuales son hidrolizados por amidohidrolasas cuya actividad está regulada por giberelinas. Otra fuente de auxinas sería la β -oxidación del ácido indol butírico (AIB) contenido en los peroxisomas donde puede ser convertido en IAA (Leubner-Metzer 2003).

2.6 Bancos de Germoplasma

Los bancos de germoplasma se diseñaron con la finalidad de conservar la diversidad de especies silvestres y domésticas de semillas de diferentes especies vegetales y variedades para cubrir necesidades de conservación y alimentación en situaciones de catástrofe ambiental (FAO 2010). Las semillas se clasifican en ortodoxas y recalcitrantes y su mecanismo de conservación depende del tipo de semilla que sea. Así se tiene que, en la especie *Capsicum annuum* las semillas son ortodoxas y se deben deshidratar a una humedad relativa de entre 15-20% y almacenar a temperaturas inferiores a los -20°C. Por su parte Copeland y McDonald (2001) reportan que para el género *Capsicum* el

contenido de humedad llega a ser de 7.6%. Sin embargo, Nuez et al. (2003), mencionan que las semillas del género *Capsicum* tienen una viabilidad de 5 a 8 años y el contenido de humedad puede variar de 4 a 6%, almacenándose a -10°C.

Para otros autores, la viabilidad de la semilla de esta especie comienza a declinar con el tiempo, por lo que se debe monitorear cada 5 años (Ewart 1908). Sin embargo, las semillas con fines comerciales se deben almacenar entre 2 a 4 años, pues debe asegurarse la viabilidad de la semilla para su venta pues después de este tiempo la germinación puede variar de entre 74% a 16% (Priestley 1986).

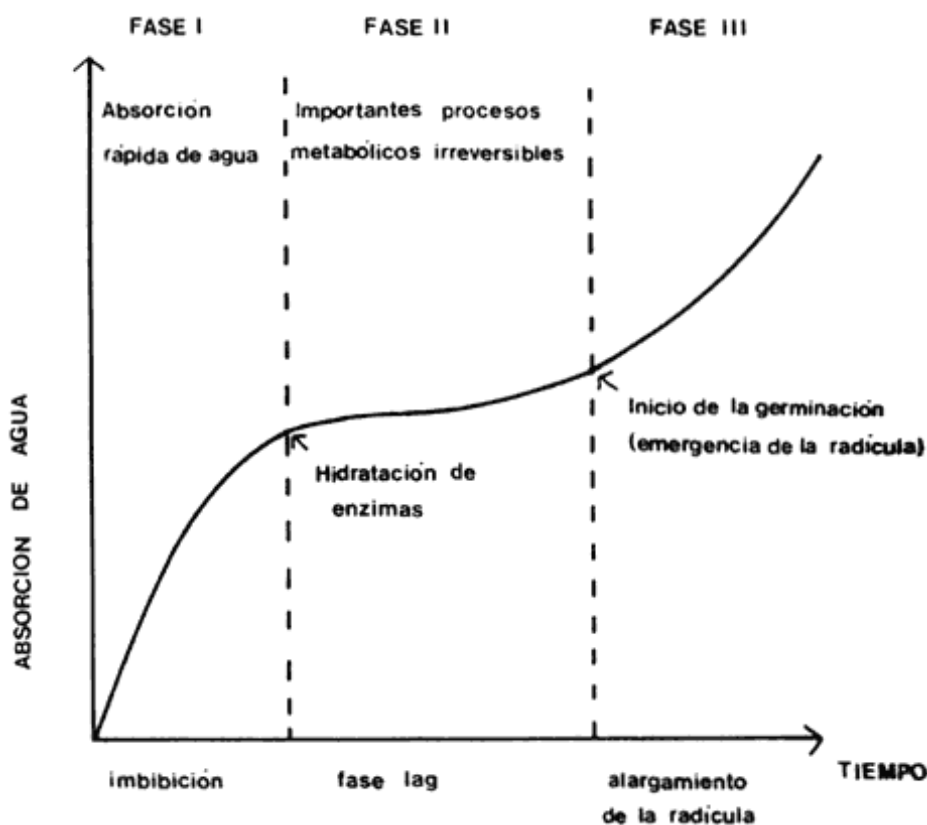


Figura 8. Fases de la germinación. Fase I-Imbibición, Fase II-Alta actividad metabólica y Fase III-Emergencia de la radícula.

2.6.1 Calidad de la semilla

Por otra parte, con la finalidad de asegurar el suministro de alimentos vegetales, es importante establecer metodologías que permitan identificar la calidad de semilla, ya

que ésta es importante en la producción agrícola. Respecto a ello, se deben considerar características físicas, fisiológicas, genéticas y sanitarias de las semillas, de lo contrario, se obtendrán poblaciones vegetales poco resistentes a plagas, fenómenos meteorológicos adversos, suelos poco fértiles y con bajas probabilidades de sobrevivencia una vez establecidas. En la evaluación de la calidad de semillas se debe contemplar la germinación, calidad física y contenido de humedad. Para ello, se debe tener una muestra representativa del total de semillas.

El análisis de calidad de semillas debe llevarse a cabo según las normas internacionales establecidas por la Asociación Internacional de Análisis de Semillas (ISTA), con la finalidad de intervenir en la elección de compra, venta, beneficio, almacenamiento o descarte de semilla. Dos factores que intervienen en la conservación de las semillas son la temperatura y humedad relativa a la cual son almacenadas las semillas, entre más bajos estos dos factores, mayor y mejor será la calidad de las semillas. Para evaluar la viabilidad de las semillas se emplea la prueba de tetrazolio (TZ) la cual además de proporcionar información acerca de la calidad de la semilla, puede arrojar información de si la semilla está en dormancia, motivo por el cual el porcentaje de germinación puede ser bajo sin razón de ser mala calidad la semilla. En la prueba de TZ los embriones que son viables se tiñen de rojo debido a que las semillas hidratadas activan las enzimas deshidrogenasas, las semillas que no se tiñen de rojo no son viables.

En 1981, Randle y Honma, coinciden en que, dependiendo de la especie y variedad de chile, las semillas completan el proceso de maduración fisiológica poco después que el fruto es separado de la planta madre, de una semana a mes y medio.

Así en 1987, Edwards y Sundstrom analizaron tres aspectos en la germinación de semillas en chile tabasco, encontrando que la madurez del fruto, tiempo de recolección del fruto y poscosecha son factores que afectan la germinación, obteniendo 81% de germinación de semillas procedentes de frutos maduros y 86% de germinación de semillas de 21 días de almacenamiento a temperatura ambiente.

En 1991, Puente y Bustamante aseguraron que las semillas presentan mayor porcentaje de germinación al alcanzar cierta madurez fisiológica. Ese mismo año, Doijode (1991) realizó un experimento en donde germinaron semillas de chile, ubicadas en la parte

basal, ápice y medio del fruto, descubriendo que las semillas presentes en la base del fruto presentan mayor porcentaje de germinación que las semillas posicionadas en otra parte del fruto. Sin embargo, en 1974, Cochran estudió el porcentaje de germinación en semillas de chile pimiento morrón, observando que las semillas cuya morfología fuese mayor, presentaba mayor porcentaje de germinación expresando mejor vigor y crecimiento homogéneo en comparación con las semillas de tamaño menor.

En 1996, Moreno determina que las semillas deben cumplir con ciertas condiciones físicas para ser consideradas de calidad como el contenido de humedad, peso por volumen, color, tamaño de semilla, peso de mil semillas, daños por hongos e insectos y pureza.

Algunos autores como Puente y Bustamante (1991), Randle y Honma (1981) y Edwards y Sundstrom (1987), coinciden que visualmente se puede identificar si los frutos han llegado a su madurez fisiológica al tornarse de color rojo y el tiempo poscosecha, sin embargo se deben considerar factores genéticos como pureza y origen de la semilla, factores ambientales como altitud, temperatura, precipitación, disposición de nutrientes, tipo de suelo en el que se desarrolló la planta madre y técnicas en el manejo de las semillas como tiempo de cosecha, tiempo de deshidratación, selección de semillas, tiempo de almacenamiento de la semilla y condiciones sanitarias de almacenamiento son factores que influyen en la calidad de la semilla. En algunas especies de chile hay una relación estrecha entre la calidad física de la semilla y su fisiología pues se expresa en semillas más viables, mayor porcentaje de germinación y vigor en las plántulas.

Para Wall et al. (2002), las características genéticas de la semilla de chile influyen en características fenotípicas como el vigor y germinación de semillas que a su vez se ven expresadas en la pungencia, tamaño, color y forma del fruto y a mayor variedad de chiles mayor es la riqueza y pool genético de la especie (Hernández 2011). Sayed y Essam (1952), indican que las semillas maduran dentro del fruto maduro, Doijode (2001) señala que para que las semillas de chile presenten mayor porcentaje de germinación es necesario que sean almacenadas cuando ya están maduras. Por su parte Sanhewe y Ellis (1996), mencionan que para mejorar la calidad deben pasar por un periodo de deshidratación ya que ello beneficia al vigor de la plántula. Respecto a la

selección de frutos en el género *Capsicum* para determinar la calidad de éstos y de la semilla, se deben considerar características homogéneas en cuanto tamaño, color y forma, así como el peso, longitud y diámetro, tanto de los frutos como de las semillas. Lo ideal es elegir frutos que presentan madurez fisiológica (color rojo). Es importante seleccionar frutos que provengan de plantas madre que se encuentren en buen estado de salud, libre de enfermedades y vigorosas, se deben escoger frutos y semillas que tengan mayor tamaño y libres de enfermedades (Wall et al. 2003); de lo contrario, si se seleccionan chiles que no están maduros (verdes), la calidad de la semilla se verá afectada pues aún no han llegado a su madurez fisiológica, por lo que el potencial germinativo de la semilla será baja y así será el de la cosecha. Según las recomendaciones de Luna (2010), los primeros frutos son los que producen semillas de mayor calidad, pues presentan mayor viabilidad, buen desarrollo fisiológico, mayor porcentaje de germinación y vigor, por lo contrario, la selección de frutos en mal estado de salud, pequeños, malformaciones e inmaduros producen semillas de calidad no deseable y bajo interés comercial.

2.6.2 Almacenamiento de la semilla

Fisher (1982), sugiere que para almacenar las semillas de chile se deben deshidratar hasta alcanzar una humedad de 8 a 10%. Según Steiner (2012), para disminuir la susceptibilidad de semillas al ataque de plagas durante el almacenamiento, es preferible coleccionar las semillas cuando el fruto esté fisiológicamente rojo, para Latournerie et al. (2009), un adecuado almacenamiento está asociado a mayor germinación. Harrington (1972), por el contrario, opina que cuando las condiciones de almacenamiento no son las indicadas la calidad de la semilla disminuye afectando la viabilidad, germinación y vigor de la plántula (Ferguson et al. 1991). Otros autores como Bonner et al. (1994), mencionan que las semillas de interés comercial deben ser almacenadas en condiciones que permitan prolongar sus características germinativas considerando factores como la humedad y temperatura de almacenamiento, así se tiene que temperaturas altas y humedad relativa alta dañan la capacidad germinativa de la semilla de acuerdo a las observaciones de Gregg y van Gastel (2000). Para Agera y Dau (2012), los frutos se deben coleccionar cuando hayan alcanzado su madurez fisiológica, que se encuentren libre

de enfermedades y en buenas condiciones físicas. Para Tay (2004), las semillas se deben almacenar cuando tengan 5% de humedad y según Ellis y Hong (2006) el almacenamiento de las semillas a 2% de humedad no afecta la calidad de la semilla. Los factores ambientales de conservación de las semillas como la temperatura deben ser menor a 15°C (Sukprakarn et al. 2005). La viabilidad de la semilla se puede asegurar de 3 a 5 años cuando el área de almacenamiento de las semillas de chile presenta menos del 55% de humedad relativa con poca intensidad lumínica, contenidos en frascos herméticos (Berke 2001; Colley et al. 2010).

Reveles-Hernández et al. (2013), mencionan que fisiológicamente cuando la semilla madura es deshidratada, la actividad del metabolismo disminuye, por lo que la conversión de alimentos de reserva como azúcares y lípidos a grasas más estables y almidones. De manera natural, la semilla entra en un estado de latencia ya que el contenido de humedad ha disminuido, por lo que la semilla se puede almacenar por largos períodos de tiempo. Para ampliar el tiempo de vida de las semillas, éstas deben tener un contenido de humedad de 5 a 7% y almacenarlas desde -5 a -20°C, de lo contrario la calidad de la semilla disminuye.

2.7 Germinación en semillas de chile piquín

El chile piquín pertenece a la familia Solanaceae, cuyas especies se caracterizan por presentar bajo porcentaje de germinación, ello se debe a que las semillas presentan dormancia fisiológica no profunda, es decir, aunque las condiciones ambientales son favorables para que la semilla germine no lo hará (Bewley 1997), debido a que la germinación también puede ser controlada fisiológicamente por fitocromos, temperatura y fitohormonas como el ácido abscísico y giberelinas (Baskin y Baskin 2001).

Algunos investigadores como Rodríguez del Bosque et al. (2004), han reportado que la semilla de chile piquín procedente de poblaciones naturales presenta menos del 5% de germinación, ello se debe a que la semilla presenta dormancia física, es decir, debido a la composición química de la testa, la semilla no puede absorber agua y por lo tanto el proceso de germinación no se desarrolla. García et al. (2004), indica que la semilla de chile piquín no germina debido a que la concentración de ácido giberélico natural en la semilla es bajo aunado a la presencia de una capa cerosa en la testa de la semilla que no

permite la absorción del agua y por lo tanto que se inicie el proceso de germinación. Sin embargo, es importante mencionar que cada semilla, aunque sea originaria de una misma planta madre (Schutz y Rave 2003), presentará características fenotípicas y genotípicas particulares, que se observarán tanto en la planta, en la floración y fructificación. De esta forma, la germinación en una población no se da de manera homogénea, dada las características genotípicas de cada semilla (Bewley 1997).

Dada la experiencia que Baskin y Baskin (2001) tienen trabajando con semillas, se sabe que hay especies que presentan dormancia durante la etapa de maduración. Bewley (1997), menciona que las semillas presentan diferentes tiempos de germinación y que se pueden formar bancos de germoplasma de manera natural de las especies que presentan dormancia. Para Meyer y Monsen (1991), la variación en los porcentajes de germinación es el resultado de adaptaciones a causa de la interacción entre la especie y las condiciones ecológicas de su hábitat natural, es decir, entre las interacciones bióticas y abióticas del medio.

Uno de los factores que influye en el porcentaje de germinación se debe considerar la calidad de la semilla, existen factores genéticos y exógenos como los nutrientes disponibles para la planta madre (McDonald 1998), edad (Fenner 1991), posición de la semilla en la planta madre (Tieu et al. 2001), morfología de la semilla (Jones y Nielson 1999), tiempo de cosecha, técnica y tiempo de almacenamiento de la semilla (Dell'Aquila 1978) son factores que determinan el porcentaje de germinación y desarrollo de la semilla.

Por otra parte, Pons (1992) limita la luz y la temperatura como factores que intervienen directamente en la germinación, por ello las semillas al caer del fruto permanecen en suelos poco profundos para que estos factores intervengan en la emergencia de la radícula en la semilla. Es importante considerar que la germinación está condicionada por cuestiones genéticas, origen y longevidad de la semilla, diferencias varietales y cambios en estos factores afectan de manera individual el proceso de germinación.

Ramírez-Meraz (2001), obtuvo una producción del 60 al 80% de germinación en semillas de chile piquín al sumergirlas en una solución ácido giberélico comercial de 5000 ppm. Según Sato et al. (1982), las especies de *Capsicum* pueden presentar

dormancia como es el caso de *C. annuun*, *C. frutescens*, *C. chacoense*, *C. chinense*, *C. baccatum* y *C. pubescens* y es necesario un período de 45 días de poscosecha para remover la dormancia. Por otro lado, Watkins y Cantliffe (1983) mencionan que la dormancia del chile no se encuentra en la testa, sino en el embrión.

De acuerdo con la experiencia de Bentsink y Koornneef (2008) la aplicación de giberelinas comerciales a la semilla promueve la rápida germinación. Según Petruzzelly et al. (2003), mencionan que al imbibir la semilla en una solución con ácido giberélico (AG) comercial se acumula una enzima llamada β -1,3-gluconasa con el AG pues su función es debilitar la cubierta seminal en chile y tomate. En un experimento que realizaron Andreoli y Khan (1999), sumergieron semillas de chile y tomate en una solución con 200 μ L de AG y observaron que beneficiaba el porcentaje de germinación. Sin embargo, Chung (1985) aplicó un pretratamiento germinativo a semillas de chile rojo al remojarlas en una solución caliente de 40 ppm de AG, obtuvo el mayor porcentaje de germinación a 30°C, mientras que a 40°C sólo germinó el 1% de las semillas.

García et al. (2010), realizaron ensayos con semillas de chile piquín empleando un tratamiento hidrotérmico y la aplicación de dos productos comerciales de giberelinas (Cyto-Gibb y Bio-Gibb), concluyendo que la aplicación de Cyto-Gibb aumenta hasta 82% la germinación, mientras que el producto Bio-Gibb incrementó 68%, caso contrario sucedió con el tratamiento hidrotérmico el cual disminuyó el porcentaje de germinación.

Por otro lado, González-Cortés et al. (2015), realizaron un experimento con chile piquín sumergiendo las semillas con 1.6% de Biozyme TF, aplicando cuatro tiempos de inmersión de 12, 18 y 24 h y un testigo sumergido en agua. Los resultados obtenidos con el producto comercial fueron 61.5, 83.3, 86.6% de germinación para cada tratamiento; con respecto a las semillas imbibidas en agua se obtuvo un máximo de 43% de germinación.

Por otro lado, investigadores como Hernández-Verdugo et al. (2006), obtuvieron porcentajes de germinación de 46 y 43% al emplear 250 y 500 ppm. Sin embargo, para Berker (2000) una semilla es de calidad cuando germina por arriba del 70%. Por el contrario, cuando Watkins y Cantliffe (1983) emplearon AG₄ y AG₇ a temperatura

mínima en el chile observaron que sólo había protusión de la radícula, en cambio al emplear AG₃ se incrementó la actividad de la enzima endomanasa del endospermo (Watkins et al. 1985). Cortéz-Baheza et al. (2007), hicieron una mezcla de 500 ppm de polietilen glicol 6000 y 500 ppm de AG, observando que con el empleo del ácido giberélico se obtenía mayor porcentaje de germinación. Para Hilhorst (2007), la germinación es un proceso natural que es regulado por la interacción de hormonas vegetales involucradas en la dormancia como es el ácido abscísico y la germinación en este caso el ácido giberélico. Kucera et al. (2005), afirma que el ácido giberélico es la hormona encargada en promover la germinación para esta especie. Por otro lado, un tratamiento pregerminativo natural fue presentado por Villalón et al. (2002), en el que sugiere que al imbibir las semillas durante 5 minutos a 50°C se promueve la emergencia de la semilla de chile piquín. Bosland y Votava (2000) mencionan que, para la especie en estudio, la semilla requiere poco más de un mes para que esta madure fisiológicamente, después de la cosecha.

De la Rosa et al. (2012), sumergieron semillas de chile simojovel (*Capsicum annuum* L.) en NaCl 0.5 M y posteriormente sumergieron las semillas en concentraciones de 0, 100, 200, 300, 350, 400, 450 y 500 mg/L, obteniendo mayor resultado al sumergir la semilla en NaCl y posteriormente a 350 mg/L, pues lograron obtener 91.7% de germinación.

Hernández-Verdugo (2004), estudió el efecto de sembrar semillas de chile piquín en un medio de cultivo de agar enriquecido con 500 ppm de AG, considerando factores como temperatura, luz, reguladores hormonales y humedad, obteniendo como resultado de germinación de 45.43%, mientras que otros investigadores como Araiza-Lizarde et al. (2011), obtuvieron un 90% de germinación al colocarlas en una solución de 400 ppm de AG comercial durante 20 h. Sin embargo, los resultados de emergencia pueden variar, pues hay muchos ensayos que se han realizado con la especie de interés aplicando diversas concentraciones de ácido giberélico y los resultados han sido variables, así pues, se tiene que los resultados obtenidos por Almanza (1998) fue de 4% al aplicar 10 ppm de AG, mientras que Vergara (1982) menciona que la aplicación de giberelinas mejora la tasa de germinación y vigor de las plántulas.

Medina et al. (2006), compararon el porcentaje de germinación en dos variantes de chile sin la aplicación de algún promotor de germinación, observando que las semillas silvestres de chile presentaron una tasa de germinación del 10%, mientras que las semillas de chile poblano germinaron el 90%. Hernández-Verdugo *et al.* (2012), al estudiar el efecto de la procedencia en la germinación de chile piquín observó que las semillas presentan mayor tasa de germinación cuando los factores abióticos y bióticos son similares a su área de procedencia.

2.8 Fenología

Es el ciclo de vida de la especie en estudio germinación, emergencia, crecimiento vegetativo, floración, fructificación y maduración (Maroto 2002) y al crecer en ambientes silvestres, su crecimiento y desarrollo depende de las variaciones climáticas y de precipitación. Sin embargo, cuando se consigue domesticar a una especie en condiciones de invernadero se ha observado que su comportamiento fenológico cambia, ya que disminuye su etapa vegetativa, rebasando la producción de flores a un 80% que, en condiciones naturales, sin embargo, la producción de frutos se ve afectada, ya que es muy baja (Maiti et al. 1994). Le favorece el fotoperiodo de 14 h, la actividad fotosintética es mayor de 8 a 10 am, disminuyendo al mediodía, observándose nuevamente su actividad a las 4 pm. Este mismo autor menciona que la etapa de floración en *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* se observa dos veces al año de marzo a abril y de julio a agosto. Al aparecer el botón (Figura 9), éste se encuentra envuelto por el cáliz, llegando a medir 1 mm de longitud, una semana después el pedúnculo se alarga, y en la siguiente semana se observa la corola, la cual abre en aproximadamente 4 días. Una vez que la flor se ha desarrollado completamente y se abre (Figura 9), es a las 9 am cuando se observa que más del 50% de las flores han abierto para cerrarse a las 6 pm y abrirse nuevamente para el siguiente día. Esta actividad se repite hasta que sucede la polinización, la antesis sucede entre las 11:30 y las 12:30 h. Una vez que la flor es polinizada la corola comienza a marchitarse y finalmente se cae, proceso que dura hasta dos días, posteriormente inicia el desarrollo del fruto cerca de una semana después. Las variaciones de temperatura y de luz influyen en el proceso de antesis haciéndolo más lento, sin embargo, un ambiente húmedo beneficia la antesis. Una vez que el fruto se

desarrolla y entra en la etapa de maduración se distinguen tres colores, verde, ocre y rojo (Maiti et al. 1994).

Esta especie, aproximadamente a los seis meses de edad llega a su edad reproductiva, iniciando la floración de mayo a agosto y la fructificación de junio a octubre (Gentry 1942). Sin embargo, se menciona que la etapa de floración se puede dar dos veces al año, marzo y agosto.

Para Dharmatti y Kulkarni (1989), la semilla germina, pasando por diferentes etapas de crecimiento y desarrollo hasta llegar a la etapa de madurez de las estructuras reproductivas, permitiendo la polinización de la flor.

Wu-He Ming et al. (1996), evaluaron en *Capsicum frutescens* var. *conoides* y *C. chinense* el desarrollo del embrión después de la fertilización del óvulo, observando que el polen germina en el estigma después de 2 a 6 h después de la polinización y que el tubo polínico pasa al estilo aproximadamente de 8 a 12 h después de la polinización, pero después de 52-72 h después de la polinización los núcleos del espermatozoides entran al óvulo. En aproximadamente después de 32 días de la polinización el embrión ya desarrollado comienza a madurar. De acuerdo a la experiencia de Rani-K et al. (1996), durante el ciclo de vida de la planta, de manera natural se controlan las diferentes tallas, formas y división celular, diferenciación y posición de los tipos de célula, posición y número de órganos.

En un estudio de Vallejo et al. (2004), la flor de *Capsicum annuum* se abre temprano en la mañana y puede permanecer así las 24 h, las anteras se abren posteriormente a las flores, con una variación de 1 a 8 h. Puente et al. (1991), evaluaron la producción de semillas en relación a los días de maduración del fruto, observaron que en los frutos de chile bell con 30 días de maduración, se obtuvieron 192 semillas, con 45 días de maduración 238 semillas y a los 60 días se obtuvo 170 semillas. Para esta misma especie Sánchez et al. (1993), observó que el porcentaje de germinación de semillas extraídas de frutos con 30 días de maduración fue 0%, mientras que las semillas procedentes de frutos de 50 y 60 días de maduración presentaron 65% y 83%, respectivamente.

Según Bañuelos-Flores (2005), en el estado de Sonora el fruto de chile piquín es recolectado de los meses de septiembre a noviembre. Sin embargo, para Hernández-Verdugo et al. (2015), esta especie florece en los meses de julio a agosto y se pueden obtener frutos maduros en los meses de octubre a noviembre.



Figura 9. Fenología de chile piquín. Se observan fases de desarrollo del botón floral hasta llegar a fruto.

2.9 Factores físicos, salinidad y precipitación que afectan la fenología

Según Shuff y Thomas (1993), indican que la variación en la temperatura ya sea arriba de 30°C, 15°C o 0°C influyen en el desarrollo de la flor y fruto, que estos factores varían dependiendo de la especie. Barten et al. (1992), menciona que las plantas pertenecientes a la familia Solanaceae como el tomate y el chile al estar expuestas a temperaturas menos de 10°C afectan la producción de flores, influyendo en el número, morfología y la unión de los órganos florales, finalmente la producción de frutos se verá afectada por lo que las ganancias económicas para esas especies serán bajas.

En 1985 Andrews realizó una evaluación fenológica en chile piquín silvestre, encontrando homogeneidad en el desarrollo de la flor y fruto tanto en las poblaciones naturales como en las domesticadas. De acuerdo a un estudio comparativo realizado por Almanza (1998), en el que evaluó la homogeneidad y heterogeneidad en el período de crecimiento y desarrollo de especies silvestres, domésticas (jardín) y de invernadero de

chile piquín, encontró que en la estación de primavera no existen diferencias, sin embargo durante el otoño se registraron variaciones de hasta 30 días en invernadero y jardín, en la etapa de floración observó diferencias en el cual se redujo hasta 60 días en el área de jardín, pero durante el otoño es similar en la condición silvestre. Para López (2003), durante la formación del fruto en chile guajillo las células de la placenta comienzan a secretar capsicina, alcanzando mayor concentración en la madurez del fruto, esta sustancia química varía de concentración entre variedades. Para Zapata et al. (1992), la presencia de una gran cantidad de precipitación durante el período de floración genera un efecto negativo en la producción de frutos pues la flor se desprende de la planta, por el contrario, las flores que no se caen producen frutos de baja calidad, la alta humedad en la tierra genera la pudrición de las raíces por la presencia de hongos ya sea en el sustrato o en los tejidos.

Por otra parte, algunos autores han evaluado el efecto del trasplante en la fenología de las plantas de *Capsicum*, ya que esta actividad tiene un efecto positivo en el manejo de las plantas, administración de semillas que presentan dormancia, homogeneidad en el crecimiento y desarrollo, floración y fructificación tempranas, sin embargo, presenta desventajas económicas respecto a la adquisición de insumos para el trasplante. Por otra parte, el trasplante se debe realizar después de un mes o mes y medio de germinación de acuerdo a Osuna (1960). Por su parte Lim y Wong (1985), trabajaron con el chile pimienta y observaron que existe una mayor producción de frutos en la etapa adulta de plantas trasplantadas a los 30 días de germinación, cabe mencionar que este comportamiento varía en la especie y variedad de chile. Por otro lado, Montaña (2000) asegura que en pimienta dulce hay mayor producción de frutos cuando la planta es transferida a los 45 o 50 días de germinación y que no afecta las características morfológicas del fruto ya que son heredadas por la planta madre.

2.10 Hormonas vegetales

Las hormonas vegetales son sustancias químicas que participan en diversos mecanismos de crecimiento y desarrollo en las plantas, son de origen natural y pueden ser sintéticas. Pueden tener un peso molecular de 28 Da (etileno) hasta 450 Da (Brasinoesteroides) y actúan en concentraciones muy bajas como 10^{-6} - 10^{-8} mol/L. Actualmente, se han

desarrollado técnicas analíticas y manufacturados equipos para su detección en diferentes tejidos vegetales, ello con la finalidad de identificar de manera cualitativa y cuantitativa el papel y función de las hormonas en el crecimiento y desarrollo (Ljung et al. 2010).

La naturaleza química de las hormonas vegetales puede ser compleja, llegándose a confundir con la estructura química de otros compuestos orgánicos que se lleguen a encontrar en el extracto como proteínas, lípidos y azúcares interfiriendo de esta manera en la identificación de la hormona de interés. Aun así, su concentración en las muestras es muy pequeña, por lo que su identificación en el extracto vegetal puede ser complejo, por ello, es importante aplicar las técnicas adecuadas para su extracción, purificación y análisis final por el equipo indicado (Crozier y Moritz 1999).

En la vida vegetal la dormancia está relacionada tanto con el genotipo, así como las condiciones ambientales en las que se desarrolló la especie, esto influye en el comportamiento a nivel celular en donde la dormancia es el resultado de la inhibición de la división celular (Macdonald y Osborne 1988). Según Campbell et al. (1996), antes de que el DNA de las células meristemáticas se dupliquen, la fase G1 es detenida. El crecimiento del organismo continúa cuando la etapa de dormancia se termina y se reanuda la síntesis del DNA del material celular. Según Bewley hasta 1997 se desconocían los procesos moleculares que estaban relacionados con la dormancia, sin embargo, se sabe que las hormonas vegetales son importantes en la iniciación, mantenimiento y término de la dormancia (Wiltshire y Cobb 1996). Para el mantenimiento de la dormancia es necesario que se sintetice y actúe el ácido abscísico (Suttle y Hultstrand 1994), por su parte Suttle (1998) afirma que el etileno también está involucrado en el inicio de la dormancia, pero no en su mantenimiento. Sin embargo, Coleman (1983) menciona que tanto las giberelinas como las citocininas están involucradas en el término de la dormancia. Para Turnbull y Hanke (1985), existen dos tipos de citocininas como las *transzeatina* e isopenteniladenina que incrementan su síntesis durante el almacenamiento poscosecha, antes de la germinación. Estas citocininas también están involucradas en la terminación de la dormancia. De acuerdo a Shaw (1994), las citocininas, como la zeatina, pueden ocurrir en dos formas isoméricas de manera natural *cis* o *trans*, sin embargo, la *transzeatina* es la única que tiene actividad

biológica y las formas *cis* no presentan actividad alguna (Tay et al. 1986). Koornneef y Karssen (1994), afirman que durante el desarrollo de la semilla, es en la última etapa de maduración cuando ocurren pocos cambios morfológicos, sin embargo sí hay cambios a nivel fisiológico y bioquímico, entre ellos la aparición de la dormancia, la cual es importante para la supervivencia de las plantas en la etapa de semillas. Esto condujo a la aparición de la teoría del balance hormonal en donde están implicadas las hormonas que promueven la germinación como las giberelinas y las que la inhiben como el ácido abscísico (Wareing y Saunders 1971). Hilhorst (1995) realizó experimentos con la finalidad de corroborar la teoría del balance hormonal, concluyendo que efectivamente el ácido abscísico (ABA) inhibe la germinación y las giberelinas (GA) la promueven. Steber y McCourt (2001), indican que existen otras dos hormonas que participan de manera indirecta en la germinación y la dormancia al participar en las rutas de transducción de ABA y GA, estas hormonas vegetales son el etileno y los brasinosteroides. Sin embargo, Wareing y Saunders (1971) aseguran que la relación del balance hormonal entre ABA y GA no es del todo correcto, puesto que un alto contenido de GA en la semilla y baja concentración de ABA no asegura la ruptura de la dormancia. Sin embargo, en años anteriores, se realizó un experimento en 1986 por Karssen y Lacka con *Arabidopsis thaliana* donde demostraron que una vez que la semilla es estratificada aun cuando presenta bajos niveles de GA, puede germinar, por lo que estos autores afirman que las GAs no necesariamente están involucradas en la ruptura de la dormancia primaria.

Wang et al. (1995), realizaron un experimento con girasoles y cebada en donde observaron que los niveles de ABA no disminuía aun después del periodo de maduración de la semilla de estas especies aun estando imbibidas en agua. Cinco años más tarde Grappin et al. (2000), corroboraron esta idea al observar que en semillas de *Nicotiana plumbaginifolia* se sintetizaba ABA aun estando imbibido, posteriormente se le agregó AG, el cual disminuía la dormancia. Toyomasu et al. (1994), realizaron un experimento para romper la dormancia en semillas de lechuga al exponerlas en luz roja y al sumergirlas en GA₃, lo que tuvo como efecto la disminución de la concentración de ABA. Jacobsen et al. (2002), demostraron en semillas de cebada que los embriones con dormancia sintetizan ABA durante la imbibición, mientras que los embriones que no

pasan por la fase de dormancia el ABA es degradado por otras actividades metabólicas. Por lo tanto, la presencia de dormancia en una semilla depende de su concentración en las semillas, sin embargo, este fenómeno que experimentan algunas especies de semillas se puede contrarrestar cuando la semilla está sumergida en un medio acuoso, de tal forma que el ABA presente en la semilla es degradado y se inicia la síntesis de GA, la cual promueve la germinación y el catabolismo de ABA. Por otra parte, en ensayos realizados en *Arabidopsis thaliana* se encontró que en semillas secas con dormancia el contenido de ABA es mayor que en semillas secas que no presentan dormancia.

En el crecimiento y desarrollo vegetal participan hormonas vegetales que permiten responder a la especie a condiciones ambientales, incluyendo auxinas y citocininas. Las hormonas vegetales que son activas son transformadas por acilación, esterificación o glicosilación. Los compuestos conjugados pueden servir como pool de fitohormonas inactivas que pueden ser convertidas en formas activas por reacciones de conjugación. Existe un concepto de conjugación reversible de hormonas como las auxinas y las citocininas que sugiere que bajo condiciones cambiantes de ambiente, desarrollo y fisiología estos compuestos son una fuente de hormonas disponibles. El metabolismo de las hormonas puede resultar en una pérdida de actividad y disminuir el tamaño del pool activo.

2.10.1 Auxinas

Fueron las primeras hormonas vegetales en ser descubiertas, tienen un papel importante en el crecimiento y desarrollo de la planta, intervienen en el tropismo, dominancia apical, iniciación de la raíz y respuestas a nivel celular como alargamiento celular, división y diferenciación (Hagen y Guilfoyle 2002). Las auxinas pertenecen a diversos compuestos químicos, la mayoría de los cuales tienen un anillo aromático como indol, fenil o naftaleno con un grupo carboxilo unido. De acuerdo a Cooke et al. (2002), el ácido indol acético (AIA) es la auxina natural más común que se encuentra en plantas vasculares. Cohen et al. (2003), menciona que existen precursores del AIA como el indol-3-acetonitrilo y el ácido indol-3-pirúvico también promueven el crecimiento y desarrollo, probablemente por la conversión en el tejido a la forma activa del AIA.

Respecto al ácido indol-3-butírico se clasificó como una auxina sintética en un compuesto endógeno de la planta (Bartel et al. 2001). Según Kelley y Riechers (2007), existen dos tipos de auxinas sintéticas que actúan de manera efectiva en el crecimiento de la planta, ácido acético-1-naftaleno y ácido 2,4-diclorofenoxiacético y es empleado para eliminar maleza.

En las plantas existen muchas moléculas derivadas del indol, entre ellos el aminoácido L-triptófano que es un precursor importante del AIA, lo que se comprobó con diferentes métodos en varias especies de plantas (Sembdner et al. 1980). Bialek et al. (1992), demostraron que el AIA tiene su origen del triptófano en plántulas de *Phaseolus vulgaris*. Así pues, el AIA tiene su origen del triptófano: L-triptófano (1)- ácido indol 3 pirúvico (2)- aldehído indol 3 acético (indol 3 acetaldehído) (3) AIA; y L-triptófano-Triptamina (4)-aldehído indol 3 acético- AIA.

Sin embargo, hay autores que confirman que el AIA se puede obtener en las plantas superiores a partir del ácido antranílico, sin pasar por el TRP, y que en zanahoria (*Daucus carota*) pueden funcionar diferentes rutas de biosíntesis del AIA según las circunstancias. Las auxinas naturales tienen como origen al indol, sin embargo, hay auxinas naturales que son sintetizadas a partir del ácido p-hidroxifenilacético (Epstein et al. 1989), ácido fenilacético (en chícaro) y nitrilos respectivos (Schneider et al. 1985) sin embargo, hace falta más investigación sobre estos precursores.

Existen auxinas en tejidos vegetales que existen de manera conjugada y existen 4 formas de encontrarlos: esteres con masa molecular pequeña, 1) AIA-mesoinositol, 2) ésteres con masa molecular grande, AIA-glucan (maíz), 3) Amidas de molécula pequeña en las cuales el AIA está unido por un enlace amídico-CO-NH- con aminoácidos libres, ácido indol 3 aspártico, 4) forma conjugada de AIA con los péptidos o proteínas. Estas formas conjugadas, tienen una función como almacén de auxinas. Un ejemplo es el maíz, los conjugadas de AIA se guardan en el endospermo en grandes cantidades y después de la germinación son hidrolizados, liberando la auxina, la cual es transportada a la plántula que germina (Cohen y Bandurski, 1982). Por otra parte, se ha estudiado en semillas de frijol que existen cambios de AIA y sus formas conjugadas durante el desarrollo y maduración. La concentración total de AIA fue constante en las semillas durante todo el período de desarrollo. Sin embargo, el nivel de AIA libre disminuyó, de igual forma

disminuyó el contenido de ésteres de AIA pero incrementó el contenido de amidas. De esta forma, se formaron péptido de masa molecular de 3.6 kDa (Tillberg 1974).

En semilla de soya se sintetiza una gran cantidad de auxina durante su desarrollo, la cual es liberada a diferentes órganos de la planta en forma de conjugados (Feung et al. 1973). Algunas auxinas sintéticas son el ácido 3 indolbutírico, ácido naftl-1-acético, ácido naftil-1-acético, naftl-1-acetamida, estas auxinas sintéticas al aplicarse a la planta forman conjugados similares al AIA. Por el contrario, el catabolismo del AIA está relacionada con la disminución de la concentración elevada de esta hormona en los órganos, de tal forma que el crecimiento del tallo se detiene cuando ya no hay suplemento de auxinas, por lo que para el crecimiento de los tejidos se debe suministrar auxinas de manera constante. Actualmente, se sabe que hay cuatro auxinas naturales: ácido indol-3-butírico, ácido fenilacético y el ácido 4 cloro-indolacético (Cohen y Bandurski 1982). Por mucho tiempo se ha pensado que las auxinas se sintetizan a partir del Trp, sin embargo, existen otras rutas de síntesis de las auxinas que no pasan por el Trp. A estas rutas se les denominan “ruta independiente del Trp”. La síntesis de auxinas por medio de otros precursores se descubrió en mutantes *Arabidopsis*, la cual no podía sintetizar auxinas a partir de Trp y que la ruta independiente se sintetiza en los plastidios mientras que la ruta dependiente de Trp se lleva a cabo en el citoplasma (Hamilton et al. 1971).

2.10.2 Citocininas (Ck)

Estas hormonas desempeñan un papel importante en todo el ciclo de vida de la planta, desde la germinación hasta la senescencia. A nivel celular inducen la expresión de algunos genes, promueven la mitosis y el desarrollo del cloroplasto, asimismo participan en la liberación del capullo de la dominancia apical o al inhibir el crecimiento de la raíz (Riefler et al. 2006). La kinetina es la citocinina más conocida, tiene un anillo en la posición N6 de la adenina y ha sido identificada tanto en el ADN animal como en extractos de tejido vegetal (Barciszewski et al. 2000).

Las citocininas y las auxinas se han identificado como sustancias químicas que controlan el crecimiento y desarrollo de la planta, de tal manera que el desarrollo de la raíz y del tallo depende de la proporción de citocinina y auxina, esto se demostró empleando como

material vegetal al tabaco. Por otra parte, la diferenciación de estos dos órganos se puede hacer al cambiar la concentración de estas dos hormonas. Altas concentraciones de citocininas promueven el desarrollo del tallo mientras que altas concentraciones de auxinas promueven el desarrollo de la raíz y una proporción de ambas hormonas tiene como efecto un crecimiento desorganizado (Alexieva y Karanov 1992).

Las citocininas promueven la división celular en plantas y aletargan el envejecimiento, determinan procesos como estimulación de biosíntesis de los ácidos nucleicos y de diferentes proteínas, enzimas, proteasas y ribonucleasas. Asimismo, estimulan la germinación y acortan el período de latencia en las yemas (Bollmark y Eliasson 1990).

Su biosíntesis se realiza en los ápices de las raíces y en tejidos meristemáticos como el cambium, las yemas en desarrollo, los frutos jóvenes o semillas en germinación, brotes y hojas (Chen et al. 1985); sin embargo, Tamas et al. (1989) mencionan que la zeatina se sintetiza en la zona basal de los brotes y disminuye hacia el ápice.

Existen dos formas de sintetizar citocinina en la planta 1) cuando se libera la molécula de citocinina de tRNA y 2) formación de *novo*. Respecto a esta última, el precursor es la parte púrica de la adenina de la molécula de citocinina y el ácido mavelónico como precursor de la cadena lateral (Mooney y Van Staden 1986). El transporte se puede realizar tanto en el xilema como en el floema (Biondi et al. 1984). Sin embargo, existe la posibilidad de la poca movilidad de esta molécula, por ejemplo, se ha demostrado en ensayos que el trigo al enfriarse de 24°C a 4°C ocasiona que el nivel de citocininas en la hoja disminuya de manera inmediata.

Tanto las citocininas naturales como las sintéticas que se acumulan en el tejido son convertidas tanto en fuente de reserva de compuestos que son biológicamente activos como no activos que participan como reserva y forma de transporte (Blakesley 1991).

Se ha descubierto que existe una relación entre las citocininas y las auxinas, siendo esta última la que disminuye la concentración de citocininas. Borkowska y Litwinczuk (1993), indican que las citocininas transportan información a corta distancia, al parecer las auxinas regulan la síntesis de citocininas.

Es importante mencionar, que las auxinas y las citocininas regulan el ciclo celular de la planta. Por ejemplo, en tabaco la auxina interfiere en el ciclo celular al incrementar la síntesis de proteínas CDK, así como interferir en la destrucción de las proteínas del ciclo

Respecto las citocininas, al suprimir la provisión de citocininas en tabaco, el ciclo celular se detuvo en la fase G₂. Sin embargo, al agregar citocininas, se defosforila la tirosina 15 de CDK y se restablece la actividad de la mitosis.

2.10.3 Giberelinas (Ga)

En las flores, los estambres proveen las GA, de tal forma que promueve la viabilidad del polen y después de la fecundación, la viabilidad del óvulo fecundado (Greyson y Raman 1975). El crecimiento rápido del tubo polínico se debe al AG₁. Asimismo, esta hormona influye en el desarrollo del embrión en las fases tempranas, y si existe bloqueo en la síntesis de esta hormona en la floración, la planta aborta el embrión.

En chabacano se identificó que en las flores había una concentración de 330 ng/g de GA₁/GA₃ durante el período de latencia. En semillas y frutos en desarrollo, la concentración de GA es mayor que en los tejidos. En los primeros días de fecundación (20 días), el embrión en desarrollo contiene una alta concentración de GA y aumenta hasta la tercera semana de la fecundación, posterior a ese tiempo disminuye su contenido. Mientras tanto, se empieza a desarrollar el mesocarpio, endocarpio y nucela, en dónde la concentración de giberelinas se incrementa en esa parte. De igual forma, es hasta la tercera semana de desarrollo cuando las GA dejan de tener una elevada concentración en estos tejidos, posteriormente comienza una disminución en la síntesis de GA en la octava o novena semana de crecimiento en las semillas y endocarpio. Sin embargo, en el mesocarpio el contenido de GA es elevado, esto indica que en este tejido se sintetiza GA sin necesidad de transportarse desde la semilla (Jackson y Coombe 1966). En las semillas la GA interviene en la salida de la latencia y en la germinación; Halinska et al. (1987), observaron que en semillas de manzano durante su estratificación hay un incremento en el contenido de GA, las GA son liberados de sus conjugados y se pueden obtener a partir de *novo*. En semillas de especies como manzano, trigo, arroz se ha observado que hay una concentración muy elevada en el eje del embrión al término de la latencia (Żarska-Maciejewska 1980).

2.11 Extracción y purificación de fitohormonas

Para la identificación y cuantificación de las hormonas vegetales se debe homogenizar la muestra y extraer las hormonas con el solvente indicado con la finalidad de descartar moléculas que pueden interferir con la identificación de los compuestos de interés y así obtener una muestra pura para el análisis final. La elección del método de extracción y purificación depende de la naturaleza del analito, tipo de análisis y equipo disponible.

La homogenización del material vegetal se puede hacer en fresco o con la muestra congelada haciendo la extracción en frío, macerando la muestra y agregando el solvente adecuado. La homogenización se debe realizar en frío para evitar actividad enzimática que permitan cambios en la actividad metabólica o degradación química de los compuestos de estudio (Sandberg et al. 1987).

La naturaleza del solvente para realizar la extracción puede ser metanol, mezcla de metanol y agua o buffer de pH neutral. Se debe considerar el tiempo de extracción pues si el analito se deja mucho tiempo en el solvente existe la posibilidad que el analito se rompa o que los conjugados de la hormona se hidrolicen. Para evitar la ruptura enzimática o química del analito la extracción se puede hacer a bajas temperaturas (4°C). En ocasiones se puede agregar al extracto un antioxidante como ácido dietilditiocarbámico para prevenir ruptura no enzimática de ciertos compuestos como AIA (Moritz 1996).

Con el tiempo, se han desarrollado métodos de purificación específicos, dependiendo de la naturaleza del analito y del análisis final a realizar, ya sea cualitativo o cuantitativo. La purificación del extracto vegetal se realiza haciendo una fracción del solvente y purificación en columnas de extracción en fase sólida (SPE-solid phase extraction) de silica o polímeros. Estas columnas remueven las sustancias que interfieren en el extracto (Rivier y Crozier 1987). De igual forma, el grado de purificación de la muestra depende del método de detección fisicoquímico, equipo disponible y la naturaleza del metabolito. Las columnas SPE pueden estar formadas por silica, carbón o polímeros, en donde el analito se une a la columna por interacción con la fase sólida y las sustancias que interfieren en la lectura son lavadas de la columna empleando el solvente adecuado. Finalmente, el analito es eluído de la columna empleando un solvente más fuerte (Edlund et al. 1995).

La precisión del análisis depende de los errores cometidos, la naturaleza del material vegetal que puede variar debido a su especie, muestreo, peso, proceso de purificación y equipo. Respecto a la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) es el método más común para la identificación de hormonas vegetales, empleando la fase reversa C18 (Guerrero et al. 2001), para ello se emplean gradientes y mezclas de metanol, agua y ácido acético como fase móvil (Sandberg et al. 1987). Para reequilibrar la columna después de cada muestreo se utiliza un procedimiento isocrático ya que después de cada análisis se consume tiempo y solvente lo que desajusta la columna (Lebuhn y Hartmann 1993).

2.12 Ciclo celular y fisiología de la semilla

Uno de los efectos moleculares del ácido abscísico es reprimir la síntesis de DNA y restablecer el citoesqueleto formado por microtúbulos durante la transición de las fases de la maduración y latencia. Algunas semillas de tomate que han sido modificadas genéticamente pueden germinar durante la etapa de histodiferenciación del embrión, pero las plántulas no llegan a ser viables. En esta etapa, los embriones que se encuentran en la etapa torpedo no están completamente diferenciados y el ciclo celular es intenso, en peso seco bajo y alto contenido de humedad (De Castro 1998).

En semillas de tomate con dormancia primaria De Castro et al. (2001) observaron que no existe actividad celular en el embrión cuando se incubaba en la oscuridad, aun por periodos largos de ausencia de luz. Asimismo, identificaron que el número de 4C del núcleo de DNA no incrementa y no hay síntesis de túbulos y microtúbulos. Deltour (1985), menciona que durante la fase de maduración de la semilla, ciertas especies de embriones que se encuentran en la etapa de latencia mantienen su ciclo celular en la fase G1, mientras que en otras especies las células embrionarias se mantienen en la fase G2. Bino et al. (1992) han empleado la citometría de flujo para determinar las etapas de replicación nuclear en semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) y chile (*Capsicum annuum*) durante las etapas de síntesis y germinación. Sin embargo, Bino et al. (1993), encontraron que en la mayoría de las semillas completamente maduras y secas de tomate y chile, las células embrionarias se encontraban en la etapa G1. Cabe mencionar que

Goldbach (1979), menciona que durante la etapa de maduración de la semilla, ABA, induce la dormancia en semillas ortodoxas e inhibe la germinación en semillas recalcitrantes, según Evans (1984), ABA inhibe la división celular y por lo tanto juega un papel en el detenimiento de la actividad del ciclo celular en semillas (Bouvier-Durand y Come 1989). El cese de la actividad del ciclo celular en la fase G1 es de valor fisiológico, Deltour (1985) propuso que la posibilidad del cese en la fase G1 puede hacer semillas más resistentes a condiciones de estrés. Sybenga (1972), comparó células en la fase G1 de aquellas que están en la fase G2, y observó que estas últimas son más sensibles a factores que afectan la división nuclear y morfología del cromosoma, tales como radiación y radicales libres, ello se debe a que hay el doble de cromátidas en células de la fase G2 como hay cromosomas en células de la fase G1. Según Conger y Carabia (1978) en especies como *Lycopersicon esculentum*, *Capsicum annuum* y *Dactylis glomerata* la punta de la raíz es el primer tejido que entra en la fase de división nuclear una vez que las semillas se han imbibido o están en un tratamiento osmótico. Durante la imbibición, el elevado contenido de agua en la semilla puede encender la actividad del ciclo celular e inducir el comienzo de la germinación. Es posible que durante la etapa de maduración y almacenamiento de semillas las condiciones externas puedan afectar la proporción 2C/4C de células embrionarias. Sin embargo, cabe la posibilidad que niveles elevados de 4C se deba a semillas cosechadas en etapa tardía, al no tener control de factores abióticos durante la producción de semillas, la variación del ciclo celular 2C/4C en la punta de la raíz se puede deber a diferencias entre especies de semillas y a factores externos (Bino et al. 1993).

Para realizar el análisis de citometría de flujo, se deben considerar los reactivos que se deben emplear para realizar los ensayos, pues muchas células vegetales tienen composición química diferente o metabolitos que llegan a interferir con la lectura (Loureiro et al. 2007). Por lo tanto, es preferible emplear tejidos u órganos de plantas que estén libres de inhibidores para estimar el tamaño del genoma, en algunas especies vegetales se han empleado hojas y tallos, sin embargo, estos tejidos pueden ser sustituidos por semillas (Sliwinska et al. 2005). En el caso de las semillas procedentes de embriones ortodoxos, tienen sus células en la etapa G0/G1 del ciclo celular y esto es necesario para el establecimiento del valor 2C. La presencia de núcleos de células del

endospermo o embrión endoreduplicado en algunas semillas pueden ser obtenidos mediante el aislamiento de áreas donde no ha ocurrido, por ejemplo, en la radícula (Sliwinska et al. 2009).

Por otra parte, Bino et al. (1992) y Lanteri et al. (1993), al trabajar con tomate y chile encontraron que la replicación de DNA de la punta de la raíz precede la germinación, estas especies se caracterizan porque sus embriones al estar maduros entran en una etapa de dormancia cuyos niveles de DNA es 2C, mostrando un paro en la actividad de la replicación nuclear en la etapa G1. Posteriormente, cuando las semillas son imbibidas en agua, altas cantidades de DNA en la fase 4C fueron detectadas antes que la radícula emergiera a través de la testa. Por lo que Bino et al. (1995), han considerado que la cantidad de DNA por célula o la acumulación de proteínas involucradas en la actividad celular tales como la β -tubulina que puede ser usada como un indicador de germinación en semillas no durmientes.

De acuerdo a Karssen et al. (1983), el ABA es un metabolito que induce la dormancia en semillas, ellos observaron que al trabajar con semillas de tomate mutantes *sitw* deficientes de ABA no llegan a desarrollar la dormancia por completo durante el proceso de maduración. Observaron que los altos niveles de DNA durante la fase 4C en la radícula de semillas secas maduras, en contraste con los niveles 2C del tipo silvestre. Sin embargo, cuando las semillas del mutante de tomate *gib-1* son deficientes en la síntesis de GA son por lo tanto durmientes y al ser imbibidas no hubo germinación sino hasta que se agregó GA exógeno las semillas germinaron (Liu et al. 1994). Liu et al. (1997), llegaron a la conclusión que ABA es importante para que la célula se detenga en su ciclo de división celular durante la fase G1 en la etapa de maduración y el AG es una hormona importante para que la célula entre en la fase 4C del DNA para que se inicie la germinación. Por lo que, tanto ABA como AG regulan la dormancia a través de procesos que pueden ser seguidos por las cantidades de DNA en la punta de las raíces de la semilla.

En algunas especies arbóreas, las semillas entran en dormancia profunda tiempo después de alcanzar la madurez fisiológica, como en el caso de *Acer platanoides* L. y para que la germinación suceda es necesario que la semilla esté húmeda y pase por un tiempo de

estratificación (Ross 1996). Wareing (1982) indica que este fenómeno fisiológico que se presenta en semillas puede ser inducido por reguladores de crecimiento endógeno y por influencia de efectos genéticos (Jarvis et al. 1997).

Pawłowski et al. (2004), encontraron proteínas asociadas con la ruptura de la dormancia, observaron que después del período de hidratación se sintetizaban más proteínas y en aquellas semillas que eran expuestas a estratificación poco antes de la germinación aparecían las proteínas vinculadas con la ruptura de la dormancia, las cuales se podrían localizar en el eje embrionario y en los cotiledones. Por otra parte, la división celular y el crecimiento celular son funciones que regulan la transición de las semillas de la dormancia a la germinación. En embriones completamente maduros de semillas de tomate no durmientes y en chile la mayoría de los núcleos de las células meristemáticas se encuentran en la fase G0/G1 (2C del DNA) del ciclo celular. Toda vez que las semillas son imbibidas, los núcleos entran en la fase G2 (4C del DNA) poco antes de germinar, por lo que antes de la emergencia de la radícula hay una replicación del DNA (Liu et al. 1997). Sin embargo, Górník et al. (1997), demostraron que no es necesario la replicación del DNA para que se realice la emergencia de la radícula, sin embargo para que la plántula se desarrolle como tal es necesario la duplicación del DNA. Por otra parte, la imbibición y la baja temperatura activan muchos mecanismos moleculares y celulares que rompen la dormancia. Bewley y Black (1994), mencionan que los mecanismos que se desencadenan con la imbibición son síntesis de proteínas, duplicación del DNA y actividad de las RNA's. En el caso de *Acer platanoides* (ortodoxa) y *Acer pseudoplatanus* (recalcitrante) presentan un DNA de tipo 4C en semillas durmientes. En semillas ortodoxas de cereza *Prunus avium* L. la mayoría del núcleo es de tipo 2C DNA (Finch-Savage et al. 1998). Sin embargo, en las últimas etapas de estratificación los niveles de DNA cambian en *Acer platanoides* y en *Prunus avium*, mientras que en semillas recalcitrantes *Acer pseudoplatanus* no se presentaron cambios. De acuerdo a Hodurková y Vyskot (2003), antes de la germinación se deben sintetizar las proteínas. Por otra parte, la actividad del ciclo celular está asociada con la dinámica espacial y temporal de microtúbulos y proteínas asociadas a microtúbulos (Hepler y Hush 1996).

3. JUSTIFICACIÓN

El género *Capsicum* pertenece a la familia de las solanáceas, que son originarias del trópico y subtrópico de América, de las cuales algunas son de importancia económica ya que se utilizan principalmente en la alimentación humana (Heiser y Pickersgill 1975).

En la horticultura mexicana, el chile es uno de los cultivos más importantes y el de mayor consumo popular, especialmente en estado fresco, generando divisas para México, ya que es el principal país proveedor de Estados Unidos y Canadá en los ciclos invierno- primavera; es también de gran importancia social debido a la enorme cantidad de mano de obra que requiere durante todo el ciclo agrícola (Valadéz y Aguado 2009). En México existe una gran diversidad de chiles en cuanto a forma, sabor, tamaño y pungencia. Entre los principales se encuentran el jalapeño, serrano, habanero, ancho, mulato, pasilla y piquín (Valadéz y Aguado 2009). El chile piquín se encuentra ampliamente distribuido por toda la zona costera de México donde recibe un sinnúmero de denominaciones como chile de monte o chiltepín. Su hábitat común son los cacaotales, huertos familiares, cocotales, platanares y potreros (Esparza 1987).

El chile piquín es un recurso forestal no maderable, el cual es importante en zonas rurales, ya que la actividad económica de esas poblaciones depende de este recurso. Robles (2009) encontró que en la región del Río Sonora (Sonora), hubo una derrama de \$18,200,000.00 en una producción de 70,000 kg a un precio de \$260.00 kg. Lo que muestra la importancia de esta especie en esa región en la época de recolección.

El precio registrado de esta especie en el mercado alcanza valores altos en algunas regiones de México, en el Noroeste de México el precio es de \$50.00/kg de chile verde, los intermediarios lo revenden de \$100.00 a \$ 120.00/kg. Cuando ya no hay chile piquín en el campo, se vende entre \$500.00 y \$600.00/kg de fruto seco (Montes et al. 2006). En la región Huasteca del país el precio del chile piquín es de \$30.00 a \$60.00/kg en verde, y de \$ 80.00 a \$ 140.00 en seco. En Querétaro el precio que pagan los intermediarios a los recolectores es de \$80.00 en verde y de \$100.00 en seco por kilogramo (Montes et al. 2006).

Cabe recalcar, que se han realizado esfuerzos por cultivar esta especie de manera doméstica, sin embargo, debido a que la semilla presenta dormancia, su aprovechamiento a gran escala es mínimo, por lo cual es importante investigar los fenómenos hormonales asociados a la dormancia fisiológica en el embrión e involucrados en la germinación, para tener mejor conocimiento en la toma de decisiones en el aprovechamiento de este recurso vegetal.

4. HIPÓTESIS

La variación en las concentraciones de fitohormonas durante el proceso de maduración del fruto (poscosecha), afecta la latencia de las semillas y con ello su capacidad germinativa.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar el papel cualitativo y cuantitativo de fitohormonas como agentes causantes de latencia fisiológica no profunda en semillas de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) y caracterizar su capacidad germinativa.

5.2 Objetivos particulares

- 1) Obtener plantas madre de chile piquín a partir de semillas, evaluar fenología de flores, hojas, frutos, caracterizar morfología, determinar contenido de humedad, peso de frutos y semillas.
- 2) Caracterizar cualitativa y cuantitativamente la presencia de fitohormonas (ácido giberélico, auxinas y citocininas) como agentes de latencia fisiológica no profunda, en semillas de diferentes edades (poscosecha).
- 3) Establecer la relación entre los niveles de concentración de hormonas vegetales (ácido giberélico, auxinas y citocininas) y la capacidad germinativa de las semillas de chile piquín.
- 4) Determinar el estadio en el ciclo celular de los embriones de semillas de diferentes edades y relacionarlo con la latencia.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Obtención de material biológico

Los frutos de chile piquín fueron colectados en el municipio de Linares, Nuevo León, por el Departamento Agroforestal de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Los frutos fueron colectados en mayo de 2014 por personal técnico y docente del Departamento Agroforestal, quienes tienen años de experiencia en la identificación, colecta y manejo de chile piquín.

6.2 Análisis de viabilidad de semillas

Se realizaron pruebas de viabilidad a las semillas almacenadas a los 0, 3, 6, 9 y 12 meses tanto a 4°C y 24°C. Para ello se tomó una muestra de 10 semillas de cada edad y temperatura de almacenamiento. Primeramente, se imbibieron las semillas en agua destilada durante 24 horas en un tubo de ensayo previamente etiquetado con la edad y temperatura de almacenamiento, posteriormente se decantaron las semillas y se procedió a realizarles un corte longitudinal y se imbibieron en una solución de Tetrazolio, se dejaron reposar durante 72 horas. Al término de este tiempo, se procedió a observar la tinción de los tejidos y así identificar la viabilidad de las semillas.

6.3 Obtención de plantas madre

Se obtuvieron frutos silvestres de chile piquín colectados por personal de la Facultad de Ciencias Forestales, de la Universidad Autónoma de Nuevo León, procedentes de Linares, Nuevo León. Se seleccionaron aquellos frutos rojos, maduros, sin manchas, de buena apariencia y se extrajeron manualmente las semillas de color amarillo, de buen tamaño, sin daño mecánico ni manchas y sin presencia de hongos (Figura 10).

Posteriormente, se seleccionaron 500 semillas y se sumergieron en una solución de 250 mL de Biogib y se dejaron imbibir durante 24 horas, al cabo de este tiempo, se procedió a sembrar una semilla por cavidad, en una mezcla de sustrato comercial, en semilleros de polietileno (Figura 11). Las semillas se sembraron y germinaron 7 días después, se colocaron las charolas en el invernadero ubicado en la Unidad C de la Facultad de Ciencias Biológicas, para resguardarlas de la época de invierno (Figura 12).

Cuando las plántulas tenían 5 meses de edad se hizo un primer trasplante, posteriormente a los 8 meses de edad de las plántulas se hizo un segundo y último trasplante a una maceta de mayor volumen. Con ello se obtuvieron 400 plantas de chile piquín para evaluar la capacidad germinativa de las semillas a los 0, 3, 6, 9 y 12 meses de edad (Figura 10) y la fenología. Sin embargo, en la época de calor las plantas fueron atacadas por el parásito araña roja (*Tetranychus urticae*) por lo que las plantas se trasladaron al vivero, ubicado en la Facultad de Ciencias Biológicas, Unidad A. Cabe mencionar, que antes del traslado al vivero, las plantas se fumigaron con el producto comercial Biothrine 10 ml/litro de agua dos días consecutivos, posteriormente se fumigaron durante un mes, cada 15 días. Al término de este tiempo y al no observarse la presencia del parásito se trasladaron las plantas de chile piquín al vivero. Sin embargo, se aplicó una última dosis del producto comercial para evitar la reaparición del parásito.

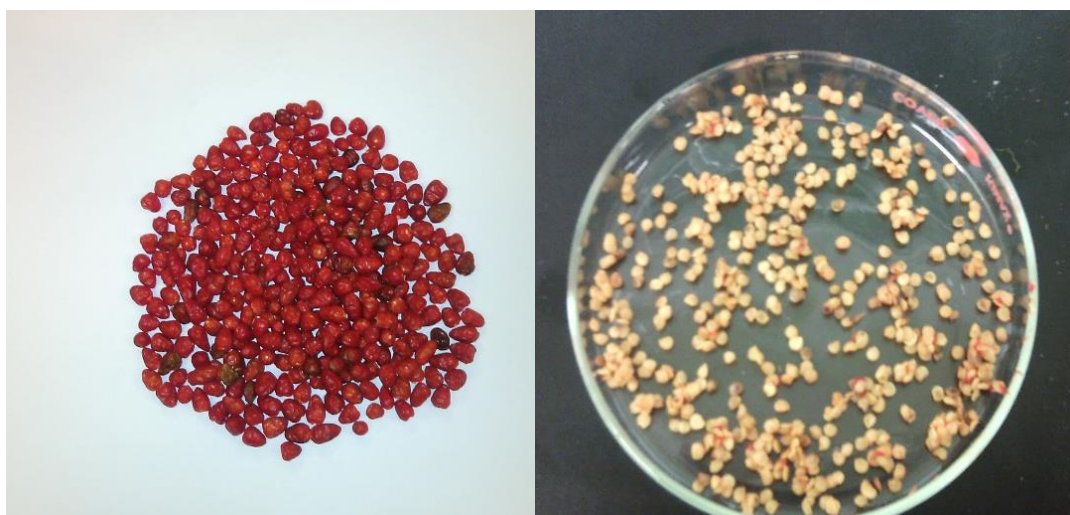


Figura 10. Frutos de chile piquín. Primera colecta de frutos de chile piquín obtenidos del cultivo de plantas madre, a. Semillas de chile piquín, fueron almacenadas a 0, 3, 6, 9 y 12 meses de edad a 4°C y 24°C, b.



Figura 11. Tratamiento con giberelinas comerciales. Producto comercial Biogib, giberelinas comerciales que promueven la germinación, a. Imbibición de semillas de chile en 10 g de Biogib durante 24 horas, b. Pasadas las 24 hs de imbibición, las semillas son sembradas en semilleros de polietileno y en una mezcla de sustrato comercial, c.



Figura 12. Plántulas de chile piquín. Obtención de plántulas de chile piquín en invernadero de 2 meses de edad.

6.4 Evaluación fenológica de plantas de chile piquín

Del lote de plantas para evaluar la fenología, se tomaron 5 plantas al azar, se etiquetaron los botones florales del 1 al 5 en cada planta, posteriormente, se registró cada mes el desarrollo del botón floral hasta la madurez del fruto, así como el brote de hojas hasta la etapa adulta, según la metodología de Fournier (1974). La evaluación se hizo durante un año en las estaciones primavera-verano y otoño-invierno.

Los parámetros a evaluar fueron los siguientes:

- 1) Hojas adultas
- 2) Brotación
- 3) Botones
- 4) Término de floración
- 5) Frutos en inicio de desarrollo
- 6) Frutos en pleno desarrollo
- 7) Frutos maduros
- 8) Frutos abiertos
- 9) Caída de frutos y/o semillas
- 10) Caída de hojas

Escala de observación de parámetro según metodología de Fournier (1974):

- 1) Ausencia de etapa fenológica
- 2) Presencia del parámetro 1% al 25%
- 3) Presencia del parámetro 26% al 50%
- 4) Presencia del parámetro 51% al 75%
- 5) Presencia del parámetro 76% al 100%

Una vez recabados los datos, se procedió a construir un fenograma que permitió observar las fenofases de la especie en estudio, las cuales fueron las siguientes:

- 1) Brotación y hojas adultas
- 2) Botones y término de floración
- 3) Frutos en inicio de desarrollo y frutos en pleno desarrollo

Las fenofases se evaluaron de acuerdo a la técnica de Fournier (1978), quien propuso un método semicuantitativo basado en una escala de valores del 0 al 4 que describen los rangos de porcentaje en cada fenofase (Figura 13). El cálculo porcentual se realizó de manera mensual, utilizando la ecuación mostrada abajo adaptada por Fournier (1978) y Silva et al. (2014).

$$F = \left(\frac{\sum_i^n 1^a}{n \times 4} \right) \times 100$$

Dónde:

F = porcentaje semanal de la fenofase (%)

a = valor de la fenofase de cada individuo

n = número muestral

4 = valor máximo que puede alcanzar un individuo en una fenofase



Figura 13. Fenología de chile piquín. Se muestra selección de ejemplar de chile piquín con diferentes fenofases para ser etiquetadas y evaluadas.

6.5 Caracterización morfológica, contenido de humedad, peso de frutos y semillas

Se colectaron frutos de 5 plantas al azar (Figura 14), posteriormente se eligieron aleatoriamente los frutos frescos para pesarlos y medirlos (Figura 15), se extrajeron las semillas (Figura 16), finalmente se procedió a medir las semillas con un vernier digital (Figura 17). Para registrar el peso de frutos y semillas se utilizó una balanza analítica (Figura 18). Los parámetros evaluados en los frutos son la longitud (mm), ancho (mm) y peso (mg). Para las semillas se midió la longitud (mm), ancho (mm), grosor (mm) y el peso (mg).



Figura 14. Frutos para morfometría



Figura 15. Morfometría de fruto de chile piquín

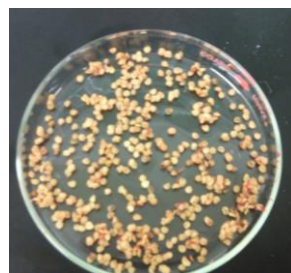


Figura 16. Extracción de semillas para morfometría



Figura 19. Extracción de semillas para contenido de humedad

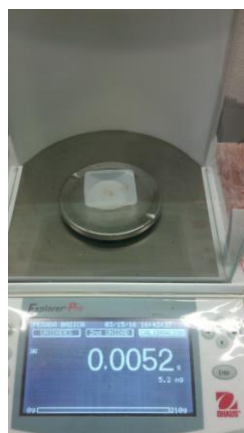


Figura 18. Peso de semillas de chile piquín



Figura 17. Morfometría de semillas



Figura 20. Paquete de 10 semillas para contenido de humedad



Figura 21. Estufa de secado de semillas de chile piquín

6.6. Contenido de humedad

Se eligieron frutos de 5 plantas al azar, se extrajeron las semillas (Figura 19) y se formaron 40 paquetes de 10 semillas (Figura 20), posteriormente se utilizó una balanza analítica para determinar el peso fresco de las semillas (Figura 18). Se deshidrataron los 40 paquetes en una estufa a 103°C durante 48 h (Figura 21), pasado este tiempo se procedió a colocarlos en un desecador, se extrajo cada paquete del desecador para obtener el peso seco de cada uno con una balanza analítica. Finalmente, para la obtención del contenido de humedad se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad en la semilla} = \frac{PFS - PSS}{PFS} \times 100$$

Dónde:

PFS= peso fresco de semillas

PSS= peso seco de semillas

6.7 Determinación del contenido de ácido giberélico, kinetina y triptófano en semillas por HPLC

Se colectaron todos los frutos maduros (rojos) de las plantas y se seleccionaron aquellos que tuvieran buen tamaño, forma y que estuvieran libres de patógenos o daño mecánico. Cuando se obtuvieron los frutos maduros, se separó un lote de frutos recién cosechados para evaluar el contenido de hormonas de interés. Al sobrante de frutos se procedió a deshidratarlos a temperatura ambiente 24°C (lote 1), mientras que otro grupo de semillas se almacenó a 4°C (lote 2), cada 3 meses se tomaron aproximadamente 30 frutos, se extrajeron las semillas y se eligieron aquellas que estuvieran sanas, sin daño mecánico y sin presencia de patógenos. Posteriormente, se liofilizaron las semillas (Figura 22), durante 36 h, en seguida se colectaron y almacenaron durante 72 h en un congelador a -72°C. Después de este tiempo, se maceraron las semillas (Figura 23) y se formaron 5 repeticiones de semillas (50 mg). Cada repetición se guardó en un tubo eppendorf y se etiquetó del 1 al 5. La extracción de hormonas vegetales se realizó al agregarle a cada

tubo eppendorf 1.5 mL de metanol al 80% (Figura 24). En seguida, se sonicó cada repetición durante 10 min (Figura 25), y se procedió a refrigerarlo durante 72 h. Posteriormente, las muestras se homogeneizaron agitando durante 5 min en un vortex, después se centrifugaron durante 15 min a temperatura ambiente y se obtuvo el extracto con una jeringa y se pasó a un nuevo tubo eppendorf, previamente etiquetado. Para la purificación de las hormonas extraídas se usó la técnica de extracción en fase sólida utilizando cartuchos de extracción de sílica C18 (Phenomenex). Para ello, se lavaron 10 cartuchos de extracción de sílica C18 con 3 mL de agua destilada y 3 mL de metanol grado HPLC. Una vez lavadas las columnas, se procedió a filtrar cada extracción, se recuperó cada filtración de cada repetición en un tubo eppendorf etiquetado, después se hizo un lavado de la columna con una mezcla de 1 mL de metanol al 20% con 0.1% de ácido fórmico, se recuperó el eluyente con un tubo eppendorf y se etiquetó según el número de repetición que le corresponde (Figura 26). Finalmente, se hizo otro lavado de 2 mL con metanol al 80% y de igual manera, se recuperó el eluyente con un nuevo tubo eppendorf, previamente etiquetado. Posteriormente, se vació 1 mL de cada repetición en un vial, previamente etiquetado, para analizarlo por HPLC (Figura 27). Este procedimiento se repitió a los 3, 6, 9 y 12 meses de almacenamiento de semillas para los lotes 1 y 2. Para la obtención de los resultados, se utilizaron los datos obtenidos con el primer lavado (metanol 80% + 0.1% ácido fórmico).

Para el análisis de hormonas vegetales se utilizó un equipo HPLC marca Agilent Technologies modelo 1200 series.

Las lecturas de las muestras se obtuvieron aproximadamente 48 h después de su análisis, para la obtención de la concentración de las hormonas vegetales, en ppm, se consideró la fórmula matemática de la recta $y = mx + b$, la amplitud del pico y el tiempo de retención en el que apareció la fitohormona de interés.

Dónde:

y= concentración de la hormona vegetal (ppm)

x= área o amplitud del pico

m= pendiente (intersección de puntos)



Figura 22. Liofilización. Deshidratación de semillas de chile piquín por 36 h.



Figura 23. Maceración. Pulverización de semillas de chile piquín para extracción de hormonas vegetales.



Figura 24. Extracción. Extracto hormonas vegetales realizada con metanol 80%.



Figura 25. Sonicación. Homogenización de extracción de hormonas mediante sonicador.



Figura 26. Extracción en fase sólida en columna C18. Extracción de hormonas vegetales por afinidad química con columna de gel sílica.



Figura 27. Análisis de extractos de fitohormonas por HPLC. Identificación de giberelinas, triptófano y kinetina.

6.7.1 Condiciones Cromatográficas

La separación cromatográfica se realizó en forma isocrática en una columna de fase reversa C18 utilizando como fase móvil, una relación metanol-acetonitrilo 0.5% (5:5 v/v), previamente desgasificada y a una velocidad de flujo de 0.3 mL/min a 68 Bar.

La detección se realizó por fluorescencia a una λ de excitación de 280 nm y de emisión de 360 nm, a una sensibilidad baja.

La cuantificación de las hormonas vegetales se basó en la medida del área de los picos de la muestra, interpolando en la curva de calibración.

6.7.2 Linealidad

Se preparó una recta de calibrado de 5 puntos, con estándar interno de AG, Kinetina y Trp, que se inyectó por duplicado, con las siguientes relaciones de concentración 10ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm y 100ppm.

La linealidad del sistema en el intervalo de concentración estudiado se comprobó mediante análisis de regresión por el método de mínimos cuadrados lo cual se calculó empleando la herramienta de análisis de datos del Programa Excel.

6.8 Evaluación de la capacidad germinativa de las semillas

Del lote 1, se eligieron frutos frescos maduros de buen tamaño, sin daño mecánico y sin enfermedades. Del total de frutos seleccionados se tomaron 20 frutos recién cosechados (edad 0 meses), de los cuales se extrajeron semillas, se seleccionaron aquellas que estuvieran completas y libres de patógenos. Se separaron 100 semillas, de las cuales 50 no tuvieron ningún tratamiento, mientras que las otras 50 se sumergieron en una solución de Biogib (ácido giberélico comercial) en 250 mL de agua destilada, durante un periodo de 24 h, posteriormente se colaron las semillas de la solución y se sembraron en un semillero de polietileno con una mezcla de sustrato comercial. Se hicieron 5 repeticiones de 10 semillas (una semilla por cavidad). Posteriormente se regaron con agua de la llave y se colocaron en una cámara bioclimática a 25°C, finalmente se procedió a regarlas diariamente y registrar la germinación todos los días durante un mes. El resto de los frutos se separó en dos lotes, el lote 1 se almacenó a 4°C y el lote 2 se almacenó a 24°C. Cada 3, 6, 9 y 12 meses de almacenamiento de las semillas se sustrajeron semillas de cada lote para imbibirlas en una solución de Biogib. El tratamiento que tuvieron estas semillas fue igual al tratamiento que las semillas de la edad 0, sin embargo, en este caso se sembraron las semillas haciendo 5 repeticiones de 10 semillas (una semilla por cavidad) almacenadas a 4°C, 4°C + AG, 24°C y 24°C + AG, sembrando un total de 200 semillas, posteriormente se regaron con agua de la llave y se colocaron en una cámara bioclimática a 25°C y finalmente se procedió a regarlas diariamente y registrar la germinación todos los días durante un mes.

Cabe mencionar, que previo al ensayo de germinación, se procedió a realizar una prueba de viabilidad de las semillas mediante Tetrazolium (TZ). Para ello, se tomaron 4 frutos de cada una de las edades (0, 3, 6, 9 y 12 meses), se extrajeron las semillas y se sumergieron en TZ durante 3 días, teniendo 3 repeticiones de 10 semillas (Figura 28). Posteriormente, se extrajeron de la solución y se hicieron cortes longitudinales de las semillas con una navaja en una caja Petri, con la finalidad de corroborar la viabilidad de la semilla y observar si estaban vivos los tejidos del endospermo y el embrión (Figura 29), para ello se utilizó un estereoscopio marca Leica. Finalmente, de acuerdo a los

resultados obtenidos, se procedió a realizar los ensayos de germinación con previo conocimiento de que tan viables eran las semillas en cada edad.

El tretazolio se preparó de la siguiente manera: para preparar una solución de reserva a 1%, se mezcló 10 g de la sal de tetrazolio en 1 litro de agua destilada. Esta solución se almacenó en un frasco de vidrio de color ámbar, en el refrigerador. Posteriormente, se preparó 1 litro de solución a 0.075% que es 75 mL solución de reserva (1%) + 925mL de H₂O.



Figura 28. Viabilidad de semillas. Imbibición de semillas de chile piquín en tretazolio para realizar prueba de viabilidad.

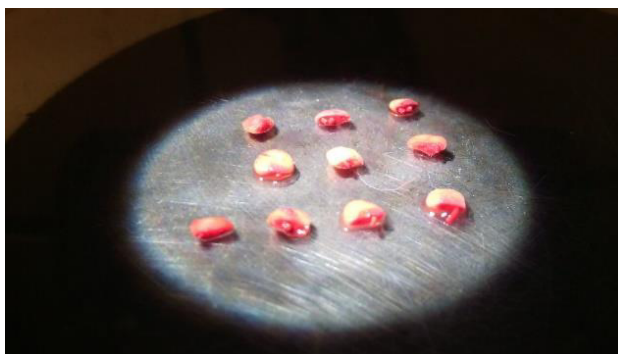


Figura 29. Corte histológico en semillas de chile piquín de 3 meses de edad. Se observa que se tiñen los tejidos de almacenamiento y embrión, lo que indica que las semillas son viables.

6.9 Determinación del ciclo celular por citometría de flujo

6.9.1 Preparación de la muestra

Para este ensayo se utilizó el kit Cycle TESTTM PLUS DNA Reagent. Se seleccionaron 30 frutos frescos, de los cuales se obtuvieron las semillas y se procedió a extraer el embrión, para tener al menos 100 embriones. Para ello, se imbibieron las semillas en 200 mL de agua destilada durante 24 h, para ablandar la semilla y extraer más fácilmente el embrión. Posteriormente, se partieron y maceraron los embriones con una navaja en una caja Petri y se le adicionó 1 mL de buffer (Triton-X) que se preparó según la técnica de Galbraith (1983) la cual consiste en una mezcla con los siguientes reactivos: 45 mM MgCl₂ 30 mM citrato de sodio; 20 mM MOPS; 0.1% (v/v) Triton X-100; pH 7.0. Ello, para causar lisis celular y se dejó reposar en la solución durante 24 h. Posteriormente, se recuperó el lisado en un tubo eppendorf y se procedió a realizar tres lavados con la solución buffer del kit Cycle TESTTM PLUS DNA Reagent.

Las suspensiones celulares se centrifugaron a 400 rpm durante 5 min a temperatura ambiente. Posteriormente se decantó el sobrenadante. En seguida, se agregó 250 µL de solución A a cada tubo y se mezcló suavemente con la mano. No se usó el vortex. Esta solución se dejó actuar durante 10 min a temperatura ambiente y no se retiró. Después, se agregó 200 µL de solución B a cada tubo y se mezcló suavemente con la mano. De igual forma, no se usó el vortex y se dejó incubar durante 10 min a temperatura ambiente, no se removieron las soluciones A y B. Posterior a este paso, se agregó 200 µL de solución C fría (4°C) a cada tubo, se mezcló suavemente e incubó durante 10 min en la oscuridad en un refrigerador. Finalmente, las muestras se dejaron reposar al menos 3 h en la solución C, pasado este tiempo pudieron ser analizadas en el citómetro de flujo.

6.9.2 Lectura de muestras

Se utilizó un citómetro de flujo marca BD AccuriTM C6 Plus Flow Cytometer de la compañía BD Biosciences. Con una absorbancia de 488 a 640 nm, un emisor de detección de 4 colores con filtros ópticos cambiables.

Para la lectura de las muestras, primero se limpió y calibró el equipo con un buffer, posteriormente se colocaron las muestras dentro del sensor para su lectura. Ya que el

equipo está conectado a una computadora, una vez leídas las muestras se guardaron los gráficos y resultados obtenidos para su posterior uso.

6.10 Análisis estadístico

6.10.1 Caracterización morfológica, contenido de humedad, peso de frutos y semillas

Los datos morfológicos se analizaron mediante un análisis de varianza de una vía y de componentes principales. Se realizó prueba de Tukey para conocer las diferencias en los análisis univariados. Todos los análisis se efectuaron con el paquete estadístico SPSS.

6.10.2 Determinación del contenido hormonal

Para el modelo estadístico se estableció un experimento bajo un diseño de tratamiento factorial y un diseño experimental completamente al azar. Se realizó un ANOVA y una prueba de Tukey para saber si existían diferencias significativas, prueba de post hoc y las diferencias significativas fueron determinadas en un nivel de confianza de $p \leq 0.05$.

6.10.3 Capacidad germinativa

Los datos fueron analizados usando análisis de varianza (ANOVA) de una vía con el programa estadístico SPSS versión 16.0. Las diferencias entre tratamientos fueron examinadas con la prueba de Tukey, prueba de post hoc y las diferencias significativas fueron determinadas en un nivel de confianza de $p \leq 0.05$.

6.10.4 Ciclo celular

Los resultados fueron analizados empleando un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con el programa estadístico SPSS versión 16.0. Las diferencias entre tratamientos fueron examinadas con la prueba de Tukey, prueba de post hoc y las diferencias significativas fueron determinadas en un nivel de confianza de $p \leq 0.05$.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Obtención de plantas madre

Se obtuvo un total aproximado de 350 plantas de chile piquín de 500 semillas que se sembraron en semilleros de polietileno, a los 7 días de sembrado emergieron aproximadamente 100 semillas. Por otra parte, se obtuvieron dos lotes de 125 plantas, un lote se colocó en invernadero y otro lote en vivero. Las plantas en el invernadero presentaron crecimiento más rápido que las colocadas al aire libre. Se observó que las plantas colocadas en el invernadero al alcanzar su edad madura produjeron mayor cantidad de flores y frutos que las colocadas en el vivero.

7.2 Evaluación fenológica de plantas de chile piquín

7.2.1 Hojas y brotación

La emergencia de las plantas se registró a los 8 días de germinación con la aplicación de Biogib, sin embargo, posterior a estos días se reportó la emergencia de semillas, pero en menor cantidad, no pasando los 20 días de la siembra. Posteriormente, se realizó el primer trasplante en el mes de marzo y el segundo y último trasplante a finales de mayo y principios de junio. De acuerdo a la literatura, el período de aparición de botones después del primer trasplante varía según la especie, pero se puede presentar usualmente después de 30 días de trasplante. En este estudio, el inicio de brotación se presentó aproximadamente 45 días después del trasplante y terminó 15 días después. Durante el ensayo se reetiquetaron en repetidas ocasiones los botones y flores, sin embargo, no se pudo dar seguimiento constante al desarrollo de los botones debido a lluvias y vientos que ocasionaron la caída de los botones y flores. Cabe mencionar, que durante la etapa de evaluación se registraron temperaturas mayores a 35°C y de acuerdo a Maroto (2002), señala que temperaturas elevadas causan la caída de botones, flores y frutos influyendo en su morfología. Se observó que el período de floración y por lo tanto de fructificación se retrasó debido a los dos trasplantes que se hicieron, asimismo el desarrollo de la planta fue afectado en el invierno ya que se reportaron temperaturas de hasta 1°C.

Respecto a los resultados obtenidos, se evaluó el desarrollo de hojas y brotación de plantas de chile piquín de un año de edad para conocer su comportamiento durante un año (2016). Respecto a la brotación de hojas se observó que en el mes de febrero se registró la mayor brotación en todo el año (78.75%), la brotación más baja se registró en el mes de julio (37.5%). Sin embargo, se observa que a partir de los meses de febrero a junio es cuando se mostró el mayor porcentaje de brotación, siendo a partir de julio a diciembre cuando la cantidad de brotes disminuyó (Figura 30). Respecto a las hojas adultas, se observó que el mínimo desarrollo se observó en el mes de marzo (16.56%). Sin embargo, de los meses de abril a julio las hojas empezaban a alcanzar su etapa adulta, siendo los meses de agosto y octubre cuando la planta mostró su máximo desarrollo 95% y 93.75%, respectivamente. Ibarra et al. (1995) observó que altas temperaturas en chile pimiento influyen de manera negativa en la producción de partes vegetativas, causando la defoliación y disminución de brotes.

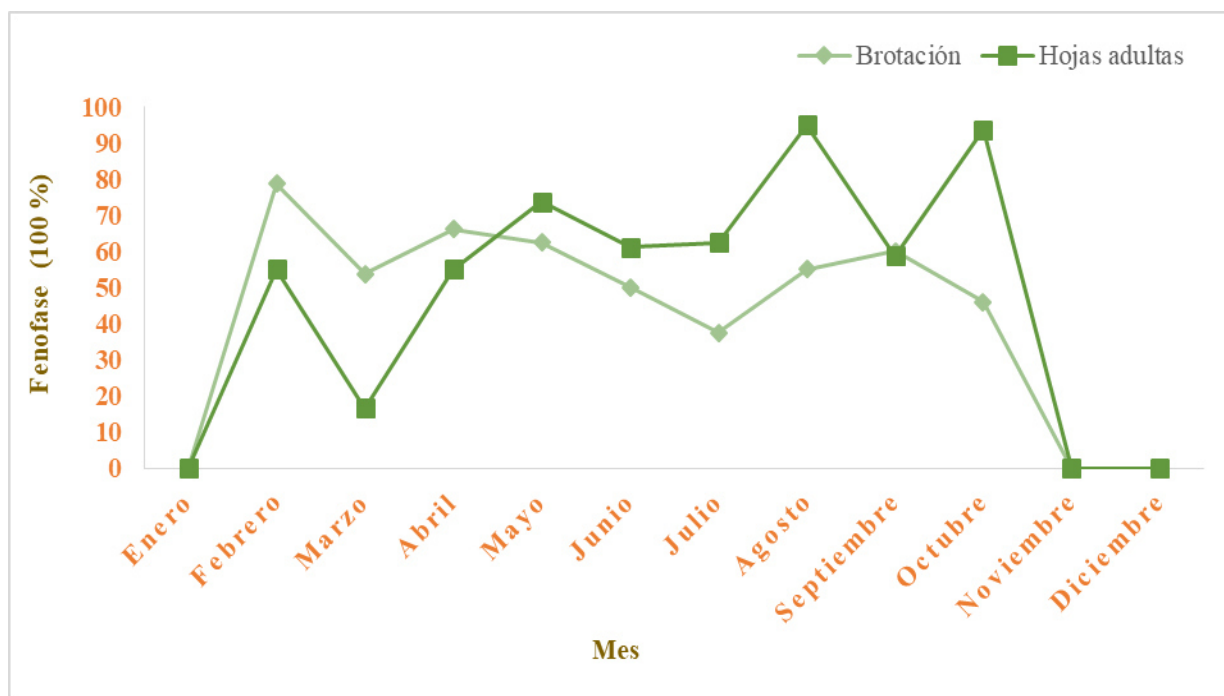


Figura 30. Fenología de brotes y hojas adultas. Comportamiento fenológico de brotación y hojas adultas en plantas de chile piquín de enero a diciembre 2016.

7.2.2 Botón y flor

Detlef (1995) menciona que la flor se desarrolla en etapas, para ello debe haber un cambio de la etapa vegetativa a la fase reproductiva, el cual es regulado por la inducción floral. La floración está regulada por factores genéticos, fisiológicos y ambientales (Amasino 1996). En este estudio los resultados obtenidos al evaluar el desarrollo del botón se observaron que en el mes de marzo se registró el 58.75% de presencia de este fenómeno en las plantas de chile piquín. Sin embargo, se identificó que a partir de abril a septiembre aumentó la cantidad de botones florales (Figura 31), siendo octubre el mes que registró mayor producción en las plantas (82.5%). Para el término de floración, se señaló los meses de agosto y octubre con menos presencia del parámetro en observación (25% en ambos meses). Sin embargo, en febrero alcanzó su máxima aparición, 41.25%, siendo a partir de marzo a julio cuando disminuyó la floración. De acuerdo a los estudios de fenología realizados por Gentry (1942), las plantas de chile piquín alcanzan su madurez reproductiva entre los seis y diez meses de edad. La etapa de floración comienza en mayo y termina en agosto, mientras que la etapa de fructificación es de junio a octubre. Sin embargo, de acuerdo a las observaciones por Maiti et al. (1994), señalan que la etapa de floración se observa de marzo a abril y de julio a agosto.

La etapa de floración y fructificación son sensibles a los cambios de temperatura, ya sea altas o bajas. En especies de plantas como *Solanum* sp y *Capsicum* sp el desarrollo de las flores es afectado por los cambios en la temperatura influyen en la morfología y número de flores, causando baja producción de frutos o malformaciones frutales (Shuff y Thomas 1993).

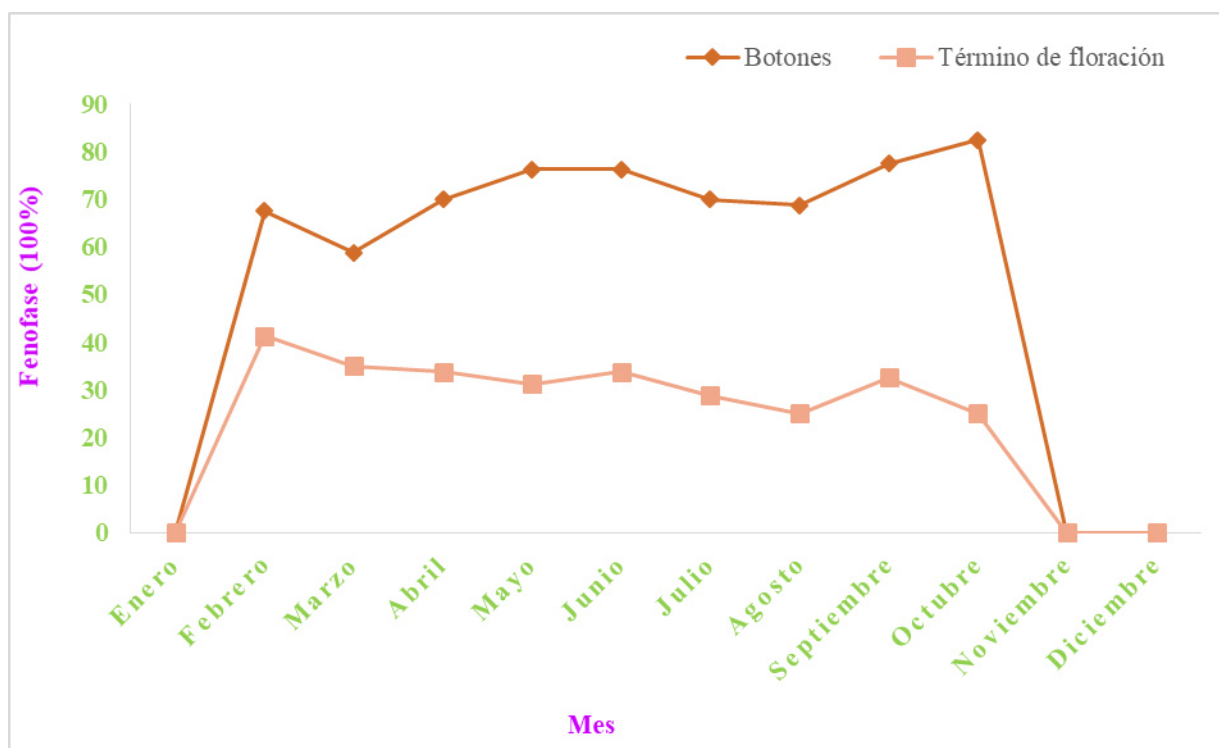


Figura 31. Fenología de botones y floración. Comportamiento fenológico de botones y término de floración en plantas de chile piquín de enero a diciembre 2016.

7.2.3 Frutos en inicio de desarrollo y en pleno desarrollo

Respecto a los frutos en inicio de desarrollo es en febrero cuando comienzan a desarrollarse los frutos (35%), disminuyendo de marzo a junio (Figura 32), y siendo de julio a octubre cuando presenta menor porcentaje (25%). Respecto a los frutos en pleno desarrollo, no hubo mucha diferencia entre los valores máximo y mínimo para este fenómeno, pues en abril alcanzaron su máximo valor (30%) mientras que en otros meses se mostró ausente esta característica. Según Gentry (1942), la fructificación en chile piquín es de junio a octubre. Por otra parte, en un ensayo realizado por Smith et al. (1997) en *Capsicum* observaron que a temperaturas mayores de 35°C disminuía la polinización, número de flores y frutos. En el caso de Cabañas et al. (2005) obtuvieron baja producción de chile mirasol ya que durante su época de cosecha se registraron temperaturas menores a 1°C.

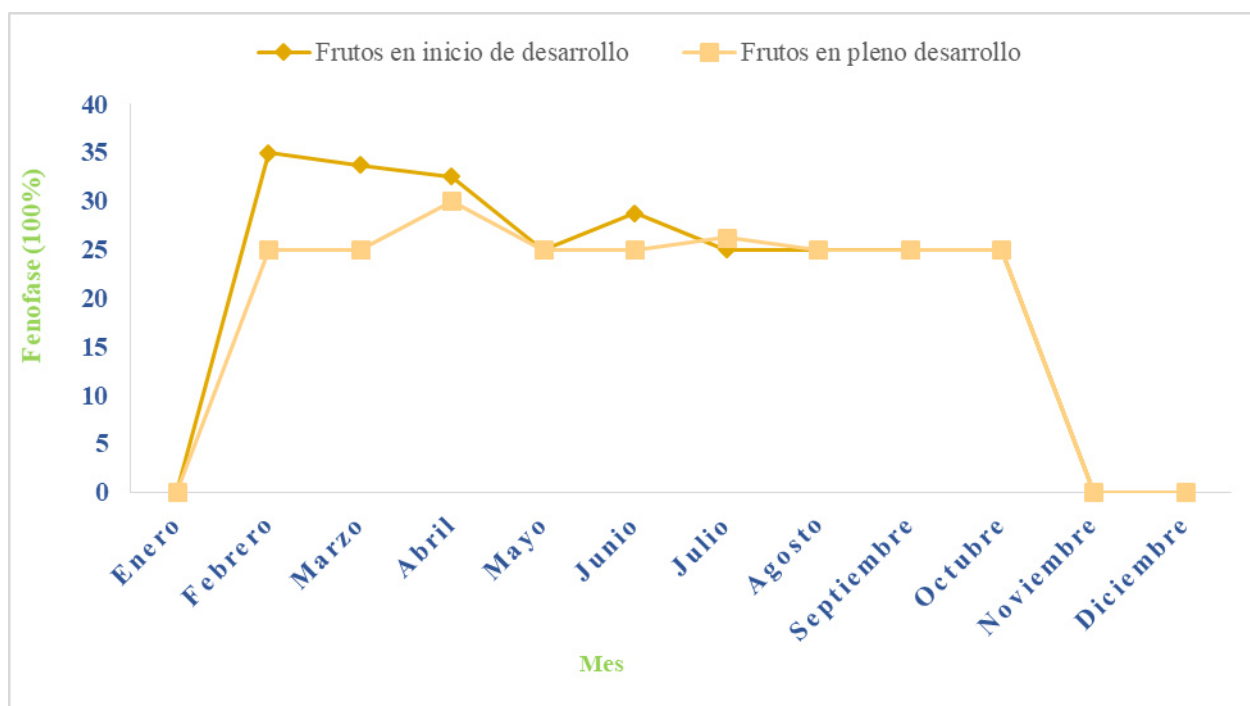


Figura 32. Fenología de frutos. Comportamiento fenológico de frutos en inicio de desarrollo y frutos en pleno desarrollo en plantas de chile piquín de enero a diciembre 2016.

7.3 Caracterización morfológica, contenido de humedad, peso de frutos y semillas

7.3.1 Longitud, ancho y grosor de semillas de chile piquín

La longitud de la semilla de chile piquín presentó un valor promedio de 3.22 ± 0.29 mm, respecto al ancho el valor medio fue 2.90 ± 0.25 mm, el grosor de la semilla fue de 0.88 ± 0.14 mm (Tabla 1). Estos valores son similares a los reportados por Hernández-Verdugo et al. (2012) quienes estudiaron parámetros morfológicos en fruto y semilla de chile piquín procedentes de localidades del estado de Sinaloa, encontrando que para el peso de una semilla el valor medio fue 2.9 mg, número de semillas por fruto 15.1 en el noreste del país, sin embargo, en localidades como Tehueco el valor medio fue 14.3, en Alcoyonqui fue 12.3 y en Tabalá fue 10.0 todos en el estado de Sinaloa.

Tabla 1. Longitud, ancho y grosor de semillas de chile piquín

Planta	Longitud mm	Ancho mm	Grosor mm
1	3.26 ±0.19	2.84±0.26	0.91±0.10
2	3.12±0.31	2.84±0.21	0.88±0.18
3	3.27±0.28	3.06±0.26	0.82±0.20
4	3.21±0.37	2.92±0.26	0.83±0.07
5	3.24±0.29	2.81±0.23	0.95±0.08
Promedio	3.22±0.29	2.90±0.25	0.88±0.14

7.3.2 Longitud, ancho, peso de fruto, peso de una semilla y número de semillas por frutos de chile piquín

La longitud del fruto de chile piquín presentó un valor medio de 8.08 ± 0.90 mm, respecto al ancho presentaron un valor promedio de 5.60 ± 0.37 mm y el peso promedio del fruto registró un valor de 109.03 ± 27.10 mg, peso medio de una semilla 4.60 ± 1.37 mg, y número de semillas por fruto reportó un valor de 13.48 ± 3.03 (Tabla 2). Sin embargo, Hernández-Verdugo et al. (2012), realizaron un estudio en el noroeste de México (Sinaloa) donde evaluaron la longitud del fruto 6.7 mm, ancho del fruto 5.9 mm, peso del fruto 71.1, siendo este último parámetro de menor valor que el presentado en este estudio. Sin embargo, al realizar ensayos de morfometría de semillas de la localidad de Cuero de Vaca encontró que la longitud de los frutos era mayor con un valor medio de 8.7 mm el cual es muy similar al reportado en este estudio, un ancho de 7.2 mm, siendo el peso del fruto 143.5 mg, ello se debe a que el número de semillas registró un valor medio de 24.3 con un valor de semilla promedio de 4 mg. Asimismo, evaluó los mismos parámetros en la localidad de Tablón Viejo en donde observó que la especie de chile

chile piquín presentaba valores pequeños los frutos de menor tamaño 5.5 mm, más angostos 4.7 mm y el peso del fruto 39.1 mg reportando el valor más pequeño respecto al número de semillas por fruto 11.2 con el valor más bajo referente al peso de semilla 1.9 mg. Algunos autores sugieren que las características morfológicas de una especie están relacionadas con factores climáticos, así Souza et al. (2010) encontraron que a mayor precipitación mayor producción de frutos y semillas en *Araucaria angustifolia*. Sin embargo, Koenig et al. (2009) identificaron que factores geográficos como la latitud tiene una correlación negativa respecto al tamaño del fruto en *Quercus macrocarpa*. Gruber y Galloway (2008) mencionan que las diferencias morfológicas en la misma especie ubicadas en diferentes condiciones geográficas están relacionadas con factores climáticos y que el cambio climático puede ser un factor determinante debido al aumento de temperatura, disminución en la precipitación y baja humedad lo que influye en la distribución y abundancia de especies (Hu et al. 2010) y este fenómeno continuará según Anderson et al. (2009).

De acuerdo a los resultados obtenidos por Hernández Verdugo et al. (2008) quienes estudiaron tanto de manera silvestre como en laboratorio características morfológicas de poblaciones silvestres de chile piquín en el estado de Sinaloa y aseguraron que las diferencias encontradas entre poblaciones de la misma especie estaban correlacionadas positivamente por factores abióticos como la temperatura, precipitación y humedad. De acuerdo a Leubner-Metzger (2003), menciona que los factores que determinan la calidad de la semilla y su producción agrícola son la genética, la morfología y fisiología. De esta manera, se pueden observar variantes en las características de la misma especie como en tamaño, color, forma y color del fruto (IBPGR 1983). Estas diferencias que influyen en la germinación pueden ser el resultado de adaptaciones acumuladas en el paso del tiempo (Meyer et al. 1995) así como la influencia de factores climáticos, humedad, precipitación, temperatura, nutrientes, características de la planta madre y manejo de la semilla y fruto al momento de la cosecha y de la siembra (Wall et al. 2002).

7.3.3 Contenido de humedad

Respecto al contenido de humedad se observó que después de deshidratar las semillas de chile piquín en una estufa a 103°C durante 48h, el resultado obtenido fue de 7% de

contenido de humedad, este dato es similar (7.6%) al reportado por Ayala-Villegas et al. (2014) al evaluar el contenido de humedad en chile de Árbol, chile Huajillo y chile Ancho.

Tabla 2. Longitud, ancho, peso de fruto, peso de semilla y número de semillas por frutos de chile piquín

Planta	Longitud del fruto (mm)	Ancho de fruto (mm)	Peso fruto (mg)	Peso una semilla (mg)	Número de semillas por fruto
1	8.53±0.96	5.81±0.36	127.04±28.52	5.20±1.26	14.10±3.63
2	8.53±0.96	5.58±0.42	104.19±28.03	4.22±0.97	12.70±2.71
3	7.85±1.24	5.34±0.23	96.56±22.18	4.66±1.20	11.90±3.44
4	8.36±0.64	5.62±0.30	104.44±23.73	4.23±1.78	13.80±1.68
5	7.93±0.70	5.66±0.39	112.95±27.26	4.70±1.54	14.90±2.92
Promedio	8.08±0.90	5.60±0.37	109.03±27.10	4.60±1.37	13.48±3.03

7.4 Determinación del contenido de ácido giberélico, kinetina y triptófano en semillas por HPLC

7.4.1 Kinetina (Kin)

De acuerdo con los resultados obtenidos, se apreció que existen diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la concentración de kinetina en semillas de chile piquín a los 0, 3, 6, 9 y 12 meses de almacenamiento a 4°C y 24°C. Cuando se comparó el contenido de kinetina dentro de las semillas almacenadas a los 0, 3, 6, 9 y 12 meses, se observó que no existen diferencias significativas a los 0, 3, 6 y 12 meses de almacenamiento debido a que los valores registrados fueron muy similares. Sin embargo, cuando se compararon los valores obtenidos a los 9 meses de almacenamiento se observó que existen diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre ellos, excepto en las semillas a los 9 y 12 meses ya que mostraron valores similares en el contenido de kinetina. Cuando se analizó el efecto de la temperatura (24°C) en el contenido de kinetina en semillas de chile piquín, se observó que existen diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre la edad de almacenamiento de las semillas.

Se registró que a los 0, 3 y 6 meses de edad de almacenamiento de la semilla no existen diferencias significativas ya que el contenido promedio de kinetina en esas edades fue muy similar, sin embargo, existen diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la kinetina a los 9 y 12 meses de almacenamiento (Figura 33). El mayor contenido de kinetina fue registrado a los 9 meses de almacenamiento (12.10 ± 1.81), mientras que el valor más bajo fue obtenido a los 0 meses (0.00 ± 0.00). Por otra parte, cuando se analizó el efecto de la edad de almacenamiento de la semilla. Al analizar el efecto de almacenamiento de las semillas a 4°C en el contenido de kinetina en las semillas, se identificó que no hubo diferencias significativas a los 3, 6 y 12 meses de almacenamiento, ya que el contenido promedio de kinetina para estas edades fue muy similar (Figura 33). Sin embargo, se observó que no hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el contenido de kinetina a los 9 meses de almacenamiento ya que a esta edad fue reportada la concentración más alta para este compuesto (1.25 ± 0.50).

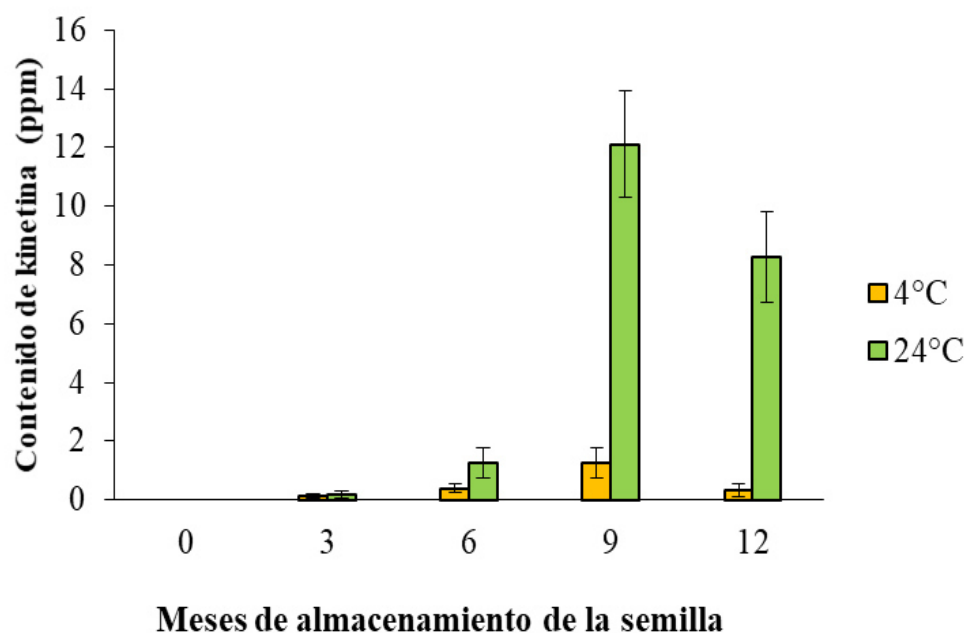


Figura 33. Concentración de kinetina en semillas de chile piquín. Los datos son representados como media \pm desviación estándar. El contenido de kinetina es significativo ($p \leq 0.05$).

Cuando se evaluó la concentración de la kinetina en semillas de chile piquín recién cosechadas (0 meses de edad) no se observó concentración alguna. Sin embargo, si se observó que el contenido de esta fitohormona fue influido por la temperatura y edad de la semilla (Figura 33). Por lo que existen diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la edad de las semillas, siendo a los 9 meses de almacenamiento cuando la semilla alcanza mayor valor tanto a 4°C (1.25 ± 0.50 ppm) como a 24°C (12.10 ± 1.81 ppm), caso contrario se registró cuando las semillas a los 3 meses de edad mostraron menor valor, pero muy similar, a 4°C (0.06 ± 0.06 ppm) y 24°C (0.08 ± 0.12 ppm). Cabe mencionar, que en ambas temperaturas de tratamiento se observó que a los 12 meses de edad de la semilla disminuye la concentración de kinetina en la semilla.

Suttle y Banowetz (2000) estudiaron el efecto del almacenamiento poscosecha y temperatura en los niveles endógenos de cis-zeatina y cis-zeatina ribosido en papa (*Solanum tuberosum* L.). Después de ser cosechados los tubérculos, se midieron los valores de cis-Z 25 pmol/g y 8 pmol/g de cis-ZR, los tubérculos que se almacenaron a 3°C duplicaron la concentración de citocininas a los 25 días de almacenamiento, sin embargo, los tubérculos almacenados a 20°C duplicaron la cantidad de hormonas hasta los 53 días de almacenamiento. Concluyendo, que las citocininas son sensibles a la temperatura de almacenamiento, lo que se refleja en el tiempo para duplicar la cantidad de hormona.

En un estudio realizado por Emery et al. (1998), observaron que la concentración de citocininas fue más alta conforme la división celular terminó que fue a los 14 DAPS, en un rango de 2.7 a 18.2 nmol, según el tejido. Las concentraciones más altas fueron medidas en el fluido del endospermo y en los embriones. Estos dos tejidos presentaron de 2 a 67 veces más concentración de citocininas que en otros tejidos. A los 30 DAPS durante el llenado de la semilla, la concentración total de citocininas disminuyó y continuó declinando a menos de 0.3 nm, ya al final del término de llenado de la semilla, a los 40 DPAS.

Gutiérrez et al. (2007) encontraron un segundo metabolito que opera durante el periodo de transición a la fase de desecación Fait et al. (2006) en el cual el metabolismo de la semilla cambia de la acumulación de aceite al almacenamiento de proteína que

incrementa en el contenido de aminoácidos libres, azúcares y ácidos grasos degradados. Este cambio metabólico, podría estar involucrado en el control de la maduración tardía. Durante esta última fase de desarrollo, la acumulación de sucrosa mostró ser un prerequisite para la adquisición de la tolerancia a la desecación (Buitink et al. 2006). Además de proveer la energía requerida para la fase de desecación (Chia et al. 2005) el último cambio metabólico conduce a la producción de metabolitos que pueden llegar a ser rápidamente disponibles durante la imbibición, antes de la movilización.

Emery et al. (2000) identificaron citocininas y las cuantificaron mediante el uso de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS) en tejidos en xilema y floema en frutos de *Lupinus albus*. Los análisis fueron iniciados en la etapa de desarrollo de la antesis e incluyó las etapas de vaina, embriogénesis y llenado de la semilla hasta la maduración fisiológica. Observaron que en los primeros 10 DPA, los ovarios fertilizados acumularon citocininas. Encontraron en el endospermo 20 nmol de citocininas y en la testa 15 nmol, mientras en las semillas la concentración de 0.6 nmol, la cual fue disminuyendo rápidamente a menos del 1% en la madurez fisiológica.

7.4.2 Triptófano (Trp)

Cuando se analizó el contenido de triptófano en semillas almacenadas durante 0, 3, 6, 9 y 12 meses a 4°C y 24°C, se observó que hubo diferencias significativas entre la edad y temperatura. Existen valores significativos en el contenido de triptófano según el tiempo de almacenamiento de la semilla (Figura 34). Se identificó que a 4°C, a los 0 y 3 meses de almacenamiento no existen diferencias significativas en el contenido de triptófano en semillas de chile piquín dado que los valores registrados eran muy similares, 10.00 ± 0.06 and 11.46 ± 0.32 , respectivamente, sin embargo, para las siguientes edades de almacenamiento (6, 9 y 12) hubo un incremento gradual significativo ($p \leq 0.05$) en el contenido de este aminoácido en semillas que están relacionadas con la madurez de la semilla, de esta manera se registró que el contenido de triptófano fue a los 9 meses de almacenamiento (34.56 ± 3.69). Por otro lado, no hubo diferencias significativas en Trp en semillas almacenadas a los 24°C a los 0, 3 y 6 meses, sin embargo, hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la concentración de este aminoácido a los 9 y 12 meses de

almacenamiento 34.56 ± 3.69 y 28.18 ± 1.84 , respectivamente. Las semillas almacenadas a 4°C mostraron valores significativos cuando tenían 9 meses de almacenamiento (27.37 ± 2.65), sin embargo, las semillas de 3, 6 y a 12 meses de almacenamiento no mostraron valores significativos (Figura 34). Cuando se compararon los valores entre edad y temperatura, los valores significativos en el contenido de Trp de semillas almacenadas a 4°C y 24°C a 12 meses. Sin embargo, no hay diferencias significativas en el contenido de Trp en ambas temperaturas de almacenamiento a 0, 3 y 6 meses de edad.

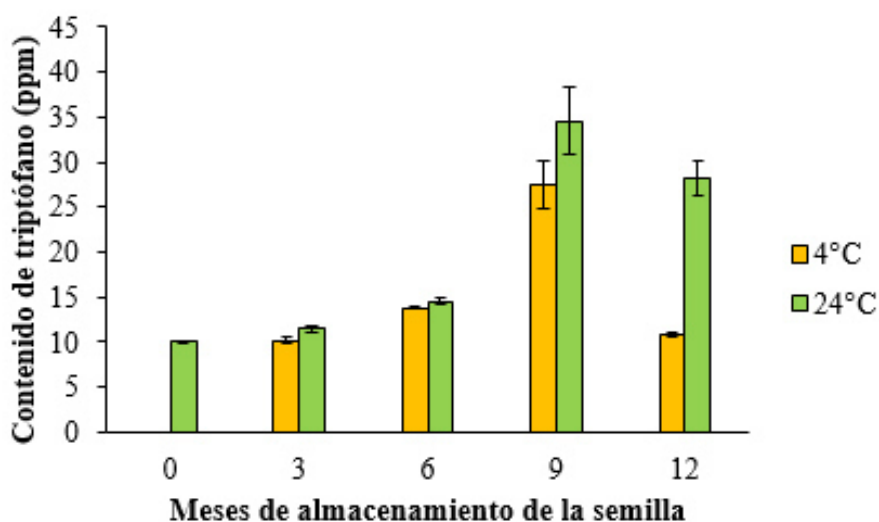


Figura 34. Concentración de triptófano en semillas de chile piquín. Los datos son representados como media \pm desviación estándar. El contenido de triptófano es significativo ($p \leq 0.05$).

La concentración de este aminoácido es mediada tanto por la temperatura como por la edad de la semilla. El contenido a los 0 meses de edad de la semilla es el más bajo (10.00 ± 0.06 ppm) en comparación con las otras edades de la semilla. Se observa que en ambas temperaturas (4°C y 24°C) el contenido de Trp incrementa conforme aumenta la edad de la semilla, sin embargo, fue a los 9 meses de edad cuando se registró mayor valor para el precursor del AIA tanto a 4°C (27.37 ± 2.65 ppm) como a 24°C (34.56 ± 3.69

ppm). De igual manera, es a los 12 meses de edad de almacenamiento de la semilla cuando la concentración de Trp comienza a disminuir (Figura 34).

Dobrev et al. (2005) compararon los resultados obtenidos en la cuantificación de ácido indol acético en dos equipos diferentes, 2D HPLC la cual es una técnica que permite obtener una muestra más pura y GC-MS, encontraron en el tallo de *Arabidopsis thaliana* una cantidad de 10.52 pmol de IAA, mientras que en hojas maduras de tabaco identificaron 13.77 pmol de IAA y 54.97 pmol en hojas jóvenes, y en trigo obtuvieron 5.86 pmol de IAA de la parte aérea y 29.85 pmol en la raíz, estos resultados se obtuvieron empleando un HPLC 2D, mientras que al analizar la cantidad de IAA disponible en los mismos tejidos que se emplearon en el 2D HPLC, se encontró en *Arabidopsis thaliana* una cantidad de 13.63 pmol, 12.54 pmol en hojas maduras de tabaco y 45.70 pmol en hojas jóvenes y 8.05 pmol en el tallo del trigo y 37.84 pmol en la raíz. Concluyendo que en los tejidos jóvenes de tabaco hay mayor cantidad de IAA que en el tejido maduro, que es cuando la concentración de IAA empieza a disminuir.

Rademacher y Graebe (1984) al trabajar con granos de cereal mencionan que al inicio de desarrollo del grano de trigo, el contenido de IAA es menor, posteriormente empieza a incrementarse y disminuye en la etapa de maduración del grano, estos resultados se pueden comparar con los obtenidos en el presente trabajo pues en las primeras etapas de almacenamiento de la semilla el contenido de IAA es bajo, posteriormente existe un incremento en el contenido de auxinas a los 9 meses de almacenamiento de la semilla de chile piquín y posteriormente disminuyó la concentración a los 12 meses.

El triptófano (Trp) es considerado como el principal precursor para la biosíntesis de IAA en plantas y microorganismos, sin embargo, hay varias rutas posibles e intermediarios involucrados en generar el producto final que es IAA. Sergeeva et al. (2002) evaluaron la producción de Trp por diferentes cepas de cianobacterias mediante la técnica de ELISA, encontrando que hay cepas que producen mayor cantidad de este aminoácido precursor del IAA, los resultados encontrados fueron los siguientes géneros *Gleotheca* 3 pmol/mg, *Plectonema* 14.9 pmol/mg, *Nostoc* 26830.9 pmol/mg *Nostoc* 712021.1 pmol/mg, *Nostoc* 672020.8 pmol/mg.

Label et al. (1988) indican que IAA es una hormona que juega un papel en el ciclo celular, crecimiento y desarrollo, formación de tejidos vasculares (Davies 1995) y polen (Ni et al. 2002) y desarrollo de otras partes de la planta (He et al. 2000). Se considera que el desarrollo de diferentes partes, incluyendo el embrión, las hojas y las raíces es controlado por el transporte de auxinas (Popko et al. 2010).

Slavov et al. (2004) encontraron 6 pmol/100 semillas de *Orobancha racemosa* de IAA, mientras que en *Orobancha cumana* obtuvieron 1 pmol/100 semillas. Mencionan que IAA es secretada durante todo el proceso de germinación y que la imbibición en agua puede aumentar el porcentaje de germinación, así como incrementar el contenido de IAA en la semilla.

Li et al. (2005) evaluaron el contenido de IAA y GA3 en plántulas de trigo con una y dos hojas y en yemas, encontraron que las yemas tenían una concentración de GA3 1.21 μg y IAA 2.56 μg , plántulas jóvenes con una hoja tenían 3.77 μg GA3 y de IAA 5.67 μg y 2.44 μg de GA3, mientras que en IAA 1.60 μg .

Hou et al. (2008) investigaron el contenido de GA3 e IAA en granos de trigo, encontraron que el contenido de GA3 disminuye conforme la planta se desarrolla, sin embargo, el contenido de IAA se incrementa conforme la plántula se va desarrollando.

Castillo et al. (2005) evaluaron la cantidad de ácido indol acético (IAA) producido por bacterias, encontraron en el medio de cultivo una media de 29 mg/mL, sin embargo, Garrido et al. (2002) encontró en tejidos de clavel 20 ng/g y Guerrero et al. (2001) 400 ng/g en hipocótilos de almatruz.

Han et al. (2012) identificaron IAA en muestras de uva encontrando una concentración de 90.5 $\mu\text{g kg}^{-1}$, asimismo encontraron GA3 en una concentración de 97.1 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Epstein y Ludwig-Müller (1993) identificaron ácido indol 3 butírico (IBA) y IAA mediante el uso de cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas (GC/MS) en varias especies de plantas encontrando 9 ng/g de peso fresco de IBA libre y 37 ng/g de peso fresco de IBA total en comparación con 26 ng/g de peso fresco de IAA libre y 52 ng/g total de IAA. Asimismo, concluyeron que el nivel de IBA se incrementaba conforme avanzaba el desarrollo de la planta, pero nunca alcanzó los niveles de IAA.

Castillo et al. (2005) estudiaron la cuantificación del contenido de IAA en caldos de fermentación empleando ácido indol propiónico como estándar interno, encontraron en las muestras de caldos una media de IAA de 28 ppm, esto empleando HPLC para la cuantificación de la hormona.

Label et al. (1988) investigaron la concentración endógena de ácido indol 3 acético y citocininas durante el crecimiento de la yema en cultivo in vitro de cereza silvestre (*Prunus avium* L.), concluyendo que a los dos días de crecimiento del tejido se reportó una concentración de 72 nmol/g de IAA, y que al octavo día de crecimiento había una disminución en la concentración de esta hormona vegetal, mientras que al evaluar la concentración de citocininas no se reportó ya que el nivel estaba por debajo de los límites de detección de acuerdo a la técnica empleada. En este ensayo, al evaluar el contenido de kinetina en las semillas de 0 y 3 meses de almacenamiento se registraron valores promedio menor de 1 ppm.

7.4.3 Giberelinas (Ag)

Existen diferencias significativas en el contenido de giberelinas en las semillas almacenadas a 4°C y 24°C, ($p \leq 0.05$), ya que se observó que el mayor contenido de giberelinas fue registrado en semillas almacenadas a 24°C, a pesar del tiempo de almacenamiento (Figura 35). Cuando se analiza el efecto de la temperatura en el contenido de semillas almacenadas a los 24°C durante 0, 3, 6, 9 y 12 meses, se encontró que hubo valores significativos en semillas recién cosechadas (0 meses) y con 12 meses de almacenamiento las cuales tuvieron el contenido más bajo de giberelinas 35.30 ± 2.12 y 33.51 ± 0.96 , respectivamente. Subsecuentemente, hubo un incremento gradual significativo a los 3 y 6 meses de almacenamiento, sin embargo, fue a los 9 meses de almacenamiento cuando las semillas registraron el valor más alto ($p \leq 0.05$).

Leszek (1997) menciona que en la semilla se pueden observar tres períodos de desarrollo: temprano, medio y tardío. En el período temprano el contenido de agua es abundante todo el tiempo y de igual manera son abundantes las giberelinas, citocininas y auxinas.

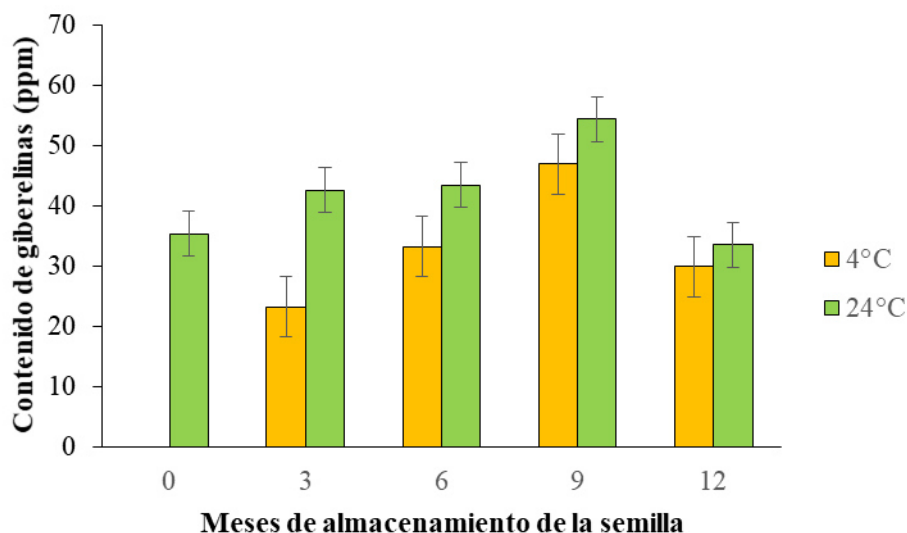


Figura 35. Concentración de giberelinas en semillas de chile piquín. Los datos son representados como media \pm desviación estándar. El contenido de giberelinas es significativo ($p \leq 0.05$).

Chen et al. (2009) estudiaron la concentración de giberelinas en *Phellodendron amurense* var. *wilsonii* y encontraron bajas concentraciones de GA4 y GA20 en la pulpa y semillas frescas. El contenido de GA3 incrementó aproximadamente a 50 ng en semillas secas almacenadas a 4°C durante 24 meses. El contenido de GA3 y GA4 incrementaron a 53.6 y 5.3 ng, respectivamente, en semillas frescas incubadas en un rango de temperatura de 35/10°C durante 1 semana. El contenido de GA3 y GA4 en semillas incubadas en un rango de 35/10°C permanecieron constantes entre la semana 1 y 2, mientras que el contenido de GA7 incrementó a 4.75 ng. Por lo que la concentración de giberelinas varía según el tejido en estudio así como en la especie, temperatura y tiempo de almacenamiento.

Altas cantidades de GA3 (118.8 ng), GA4 (17.5 ng) y GA7 (71.0 ng) estuvieron presentes en las semillas después de la estratificación en frío durante 12 semanas. Las concentraciones de GA3, GA4, GA7 y GA20 fueron 59.1, 16.4, 17.4 y 1.46 ng, respectivamente, en semillas que germinan. Sin embargo, GA1 no fue detectado en semillas de *P. amurense* var. *wilsonii*.

Por otra parte, Chen et al. (2008) identificaron en *Myrica rubra* GA1, GA3, GA4, GA7 y GA20 en el endocarpo, testa y embriones de semillas frescas tratadas con 20 mM de GA3 antes de la incubación a 30/20°C por 3 a 5 semanas. Pequeñas cantidades de giberelinas fueron medidas en semillas frescas, en el cual hubo 0.183 µg de GA1 por endocarpo. Sin embargo, observaron que en semillas tratadas con GA3 durante la incubación, el contenido de GA3 en el endocarpo disminuyó, mientras los contenidos de GA1, GA4, GA7 y GA20 incrementó en el endocarpo, testa y embrión, entre las giberelinas la GA1 fue la más alta e incrementó a 18.5 µg en el endocarpo, 14.6 µg en la testa y 1.12 µg en el embrión durante 3 semanas de incubación. El contenido de GA1 incrementó de manera continua en los embriones durante 5 semanas de incubación. En semillas recién germinadas, el contenido de GA1 fue elevado en el endocarpo (29.3 µg) y en el embrión (19.30 µg) en comparación con aquellas especies cuyos embriones no germinaron.

Munné-Bosch et al. (2011), realizaron ensayos con semillas de *Vellozia alata* en los cuales que la disminución en la germinación se debió al bajo contenido de GA, ABA, citoquininas y ácido jasmónico, mientras que el ácido indol acético permaneció constante y el ácido salicílico incrementó. Observaron que la disminución de giberelinas, ácido abscísico, citoquininas y ácido jasmónico ocurrió en los primeros tres meses de enterrar las semillas en suelo, explicando que la disminución puede estar asociada con la imbibición y los cambios seguidos en la bioquímica de la semilla y el contenido de agua incrementó durante el estudio debido al hecho de que las semillas recién sembradas fueron embebidas y expuestas a condiciones naturales en el suelo.

Chiwocha et al. (2005) reportó niveles no detectables en *Arabidopsis* silvestre de hormonas vegetales como zeatina, GA1, GA3 y GA7 en semillas maduras a los 0 días de germinación y sólo pudo detectar GA4 con 75 pmol. Sin embargo, a los 10 días de germinación de *Arabidopsis* se cuantificó 0.61 pmol.

Müller y Munné-Bosch (2011) investigaron 17 hormonas vegetales en hojas de romero (*Rosmarinus officinalis*), de las cuales el ácido abscísico, ácido jasmónico, ácido salicílico, ácido indol acético, GA4, GA9 y GA24, zeatina si lograron detectarlas

mediante el empleo de HPLC, sin embargo, las concentraciones del ácido indol propiónico, GA1, GA19 y GA20 estuvieron por debajo del límite de detección.

7.5 Evaluación de la capacidad germinativa de las semillas

7.5.1 Edad

Se observó que al sembrar semillas de frutos frescos de chile piquín (0 meses de almacenamiento), la semilla presentó un porcentaje de germinación de 38 ± 8.36 , mostrando un ligero descenso en la emergencia de la radícula a los 3 y 6 meses de almacenamiento (Tabla 1), esto se puede deber a lo que Otho et al. (2007) proponen, pues la baja germinación se debe a que las semillas aún no están deshidratadas, proceso que es importante para favorecer la calidad y longevidad de la semilla para su posterior almacenamiento. Sin embargo, la germinación de chile piquín mostró un aumento gradual en este ensayo, alcanzando mayor emergencia a los 9 meses de edad de la semilla (52.5 ± 22.44), posteriormente se observó un descenso en el porcentaje de germinación a los 12 meses de edad (31 ± 25.93). Estos datos obtenidos se pueden comparar con aquellos de Edwards y Sundstrom (1987) quienes al trabajar con chile tabasco lograron porcentajes de germinación 81% en frutos rojos y 86% en frutos posmaduros. Esto coincide con lo que Bewley et al. (2013) aportan, pues indican que la semilla alcanza su madurez fisiológica cuando se deshidrata por completo ya que termina el período de acumulación de reservas y de manera paralela se registran el mayor porcentaje de germinación y vigor, y posterior a esta etapa la semilla pierde su calidad y empieza a deteriorarse de tal forma, que los frutos cosechados a edad temprana presentan bajo porcentaje de germinación. Asimismo, al perder humedad la semilla permite el catabolismo de ABA y la síntesis de azúcares y proteínas que conforman la membrana celular (Bewley et al. 2013). Cabe mencionar, que Ayala-Villegas et al. (2014) al realizar ensayos de germinación con chile guajillo obtuvo 44% de germinación al emplear semillas de frutos que acababan de virar de color verde a rojo, en chile de árbol alcanzó 52% y en chile ancho 99% de germinación en semillas procedentes de frutos rojos y 17.6% de germinación en frutos de chile de árbol cosechados a los 40 dda (días después de la antesis). Por otro lado, en un ensayo realizado por Almanza (1998)

en el cuál evaluó el porcentaje de germinación en chile piquín, según la madurez del fruto empleando frutos rojos (maduros), frutos verdes (inmaduros) y frutos post maduros, concluyó que existen diferencias significativas en el porcentaje de germinación en los tres tipos de frutos ($p < 0.0028$), obteniéndose mayor porcentaje en los frutos rojos y que la baja germinación se debe a que el fruto al entrar en la etapa de maduración la semilla entra en letargo. Según Sayed y Essam (1952) las semillas de frutos recién cosechados tienen un efecto adverso en la viabilidad y vigor de la semilla, por lo contrario, las semillas provenientes de frutos maduros generan semillas viables. Ello porque las semillas cosechadas en la primera etapa de su formación no han alcanzado el desarrollo morfológico y fisiológico que les permita alcanzar mayor porcentaje de germinación. Sin embargo, Randle y Honma (1981) indican que, dependiendo de la especie de chile, las semillas necesitan un tiempo de almacenamiento poscosecha para alcanzar su madurez fisiológica, esto puede ser de una a seis semanas. Asimismo, mencionan que las semillas que provienen de frutos rojos han alcanzado cierta madurez fisiológica, sin embargo, esta madurez se logra mejor cuando la semilla pasa por un tiempo de almacenamiento. Cabe mencionar, que Carrillo et al. (2009) enfatizan que se deben considerar el genotipo, condiciones ambientales y características de la planta madre de la especie de chile, ya que influyen en la calidad de la semilla, así como en su germinación y vigor. El bajo porcentaje de germinación se debe a que la semilla no ha sintetizado los nutrientes necesarios como proteínas, lípidos o azúcares los cuales utilizará durante las actividades metabólicas, junto con enzimas y hormonas que tienen un papel importante en la germinación (Kermode 1995).

Sin embargo, desde el punto de vista evolutivo y ecológico, la latencia en semillas ocurre cuando en la planta madre termina la etapa de maduración del fruto, de esta manera las semillas continúan su desarrollo con los nutrientes provistos con la planta madre, previene la germinación cuando las semillas se encuentran libres en el suelo permitiendo su sobrevivencia ante condiciones naturales adversas al mismo tiempo que reduce la tasa de germinación de manera temporal y espacial evitando la competencia (Besnier 1989; Finch-Savage y Leubner-Metzger 2006; Finkelstein et al. 2008) .

7.5.2 Temperatura

De acuerdo a los resultados obtenidos en el ensayo de germinación, se observó que la temperatura en la que se registró menor porcentaje de germinación en semillas almacenadas fue a 4°C (21.2 ± 15.36), mientras que la temperatura en la que se registró mayor porcentaje de germinación fue en semillas almacenadas a 24°C (46.4 ± 25.31) (Tabla 1). En un estudio realizado por Carter y Vavrina (2000) se indica que la temperatura mínima que el chile piquín requiere para germinar son 15°C y la temperatura máxima es 30°C, siendo 25°C la temperatura óptima para la obtención de mayor porcentaje de germinación (Villalón et al. 2002). Por otra parte, Hernández (2004) enriquece el conocimiento acerca de la germinación de chile aportando que puede variar según las condiciones de temperatura, humedad, incidencia de luz y presencia de fitohormonas. Almanza (1998) realizó varias pruebas de germinación en chile piquín empleando una cámara bioclimática con temperatura oscilante entre 25 y 27°C, obteniendo valores en la germinación de 0-25%. Tommasi et al. (2006) realizaron ensayos de germinación utilizando semillas de *Ginkgo biloba* L. para ello almacenaron semillas a 4°C y 25°C durante 0, 3, 6, 9 y 12 meses, los resultados que obtuvieron fue que al sembrar semillas frescas (0 meses de almacenamiento) obtuvieron 100% de germinación tanto a 4°C como a 25°C, siendo la temperatura de 4°C en la que se registró mayor emergencia en las siguientes edades de almacenamiento. Sin embargo, el porcentaje de germinación disminuyó conforme pasaba la edad de la semilla, siendo hasta los 6 meses de edad de la semilla cuando aún se registraban valores altos de germinación para ambas temperaturas, mientras que a los 9 y 12 meses de almacenamiento cuando se registraron menos valores de germinación para ambas temperaturas. En *Trichilia degeana* una especie tropical Drew et al. (2000) realizaron ensayos de germinación en el cual observaron que después de 8 días de almacenamiento a 25°C las semillas pierden su viabilidad. Hendry et al. (1993) justifican que bioquímicamente las semillas pierden viabilidad debido al daño oxidativo que hay en ellas y que la temperatura a 4°C previene ese daño, de tal forma que el nivel de peroxidación lípida es más alta a 25°C que a 4°C tanto en los embriones como en el endospermo.

7.5.3 Tratamiento y temperatura

Al comparar el porcentaje de germinación de semillas sin tratamiento con aquellas tratadas con AG₃ comercial (Biogib), se observó que hubo mayor porcentaje de germinación en semillas tratadas con AG₃ comercial, independientemente de la temperatura y la edad. Sin embargo, las semillas que presentaron mayor porcentaje de germinación fueron aquellas que germinaron a 24°C+AG₃. Cabe mencionar, que a los 9 y 12 meses de edad de la semilla se observó que las semillas almacenadas a 4°C y tratadas con AG₃, presentaron mayor porcentaje de germinación que las semillas tratadas a 24°C (Tabla 3). Mientras que las semillas tratadas con AG₃ comercial puestas a germinar a 4°C presentaron 30.4±26.68% de germinación.

De manera general, las giberelinas bioactivas favorecen la germinación ya que están relacionadas con enzimas hidrolíticas que ablandan el tejido que cubre el endospermo, permitiendo de esta manera la movilización de reservas para que las semillas puedan germinar (Bewley y Black 1994). Petruzzelly et al. (2003) explican que la aplicación de AG₃ comercial en semillas de Solanáceas, favorece la germinación ya que suaviza la testa de la semilla gracias a la acción de β-1,3-glucanasa. De acuerdo a las afirmaciones de Bentsink y Koornneef (2008), el ácido giberélico natural y sintético favorece la germinación de semillas, sin importar la especie. Para Watkins et al. (1985) el efecto de la aplicación de AG₃ es incrementar la actividad de la endomanasa del endospermo. Por otra parte, es importante mencionar que otros investigadores han realizado una gran variedad de ensayos de germinación con semillas de chile piquín empleando diferentes productos comerciales en diversas concentraciones, obteniendo resultados variados, ello se debe a que esta especie no está domesticada por lo que presenta plasticidad genotípica y fenotípica, otorgada por condiciones bióticas y abióticas del hábitat en el que crece la especie (Oyama et al. 2006) aseverando Hernández-Verdugo et al. (2006) que la variación en la germinación de chile piquín está relacionada con su procedencia y que las condiciones geográficas, disposición y calidad de luz y nutrientes influyen en la germinación de la especie en estudio.

Así, por ejemplo, Chung (1985) aplicó 40 ppm de AG a semillas de chile rojo obteniendo valores de 30%, Almanza (1998) realizó pruebas incubando semillas a 40°C

por 3 días con 0% de germinación, agua caliente a 65°C+10ppm GA con 1% de germinación, incubadora 40°C por 3 días + lavado con 9% de germinación, lavado con agua durante 15 m con 20% de germinación y escarificación 25% de germinación. Sin embargo, los valores más altos de germinación los obtuvo al exponer las semillas a 4°C por 7 días (50%) y 4 °C por 7 días + excretas de vaca (71%), termoestratificación a 4°C (44.6%), termoestratificación a 4 °C+ excretas de vaca (50.2%). Por otra parte, Andreoli y Khan (1999) sumergieron semillas de chile y tomate en una solución de AG₃ con una concentración de 200 µL obteniendo mayor porcentaje de germinación con la aplicación de hormonas externas.

González et al. (2015) realizaron un ensayo con semillas de chile piquín empleando 1.6% del producto comercial Biozyme TF, el tratamiento consistió en sumergir las semillas durante 12, 18 y 24 h y un testigo, obteniendo como porcentaje de germinación 61.5%, 83.3%, y 86.6%, respectivamente. Sin embargo, con el testigo (24 h imbibición) se obtuvo 43% y sin hidratación 40%. Asimismo, se pueden mencionar los ensayos realizados por el centro de investigación INIFAP (2004) en donde se empleó AG₃ comercial (5000ppm) de los productos Biogibb, Progibb plus o Activol. Estos tratamientos se caracterizaron por la inmersión de la semilla durante 24 h en un rango de temperatura de 25°C a 30°C, reportando valores de germinación con poco más del 50% hasta el 80%, aproximadamente. Estos resultados se pueden comparar con aquellos obtenidos por Araiza et al. (2011), quienes sumergieron las semillas de chile en una dosis de AG₃ comercial a 400ppm y el testigo sin tratamiento alguno, posteriormente las sembraron en charolas en una cámara bioclimática a 35°C, durante dos semanas, los resultados obtenidos fueron 65% y 47% respectivamente, sin embargo, las semillas sin tratamiento tardaron en germinar más tiempo. Ramírez-Meraz et al. (2003) usó una dosis de 5000ppm de giberelinas externas y obtuvo 66% de germinación mientras que Hernández (2004), hizo una mezcla de agar con 500ppm de AG₃, obteniendo un 45% de germinación, sin embargo, al aplicar dosis de 250ppm y 500ppm se obtuvo un 46% y 43% de germinación, respectivamente. En otro ensayo se emplearon semillas procedentes de Sonora, imbibidas a 400 ppm con AG₃ y con 97% de germinación. Vergara (1982), obtuvo un porcentaje de germinación de 36% hasta 86% empleando una dosis de 100 a 500ppm de AG₃.

La variación en el porcentaje de germinación en la aplicación de giberelinas exógenas en semillas de chile piquín silvestre de diferente procedencia está relacionada por diversos factores genéticos y ambientales, así para Berke (2000) la calidad de la semilla está determinada por el porcentaje de germinación, aseverando que al alcanzar 70% de germinación la plántula expresa mejor vigor y características que pueden ser heredadas a la siguiente generación. Para Hernández-Verdugo et al. (2001) la variación en la germinación radica en las características ecológicas y geográficas del hábitat de la planta madre pues la cantidad y calidad de luz oscila con la altitud, aun así, cuando se trate de poblaciones de la misma especie (Meyer y Kitchen 1994).

Tabla 3. Resultados de la media de germinación (%) de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) de 0, 3, 6, 9 y 12 meses de edad, almacenados a 4°C y 24°C, imbibidas con ácido giberélico comercial.

Tratamientos	0	3	6	9	12	Media %
4°C	18±8.36a	14±5.47a	14±5.47a	36±11.40a	4±5.47a	21.2±15.36a
4°C+GA ₃	38±8.36b	18±27.88a	12±8.36a	64±25.09a	40±29.15bc	30.4±26.68a
24°C	32±13.03ab	30±31.14a	36±15.16	54±20.73a	24±11.40ab	46.4±25.31b
24°C+GA ₃	76±11.40c	42±28.28a	50±18.70b	56±26.07a	47±18.16c	44.8±22.93b
Promedio	41±24.03	26±23.92	28±20.15	52.5±22.44	31±25.93	35.7±24.95

Tratamiento. Las semillas fueron almacenadas a 4°C y 24°C. Después del almacenamiento, algunas semillas de cada tratamiento de temperature fueron embebidas en ácido giberélico commercial (GA₃). La otra cantidad de semillas no fueron embebidas en GA₃ comercial. Meses de almacenamiento. Las semillas fueron sembradas cuando tenían 0, 3, 6, 9 y 12 meses de almacenamiento. Porcentaje de germinación: Los valores son media y desviación estándar. Diferentes letras dentro de la columna muestran diferencias significativas entre tratamientos. Diferentes letras en la fila total muestran diferencias significativas entre meses de almacenamiento.

7.6 Determinación del ciclo celular por citometría de flujo

Los resultados obtenidos en el citómetro de flujo respecto a las semillas almacenadas a 4°C y 24°C durante 0, 3 y 6 meses, permiten corroborar a nivel fisiológico los eventos hormonales que van sucediendo conforme la división celular se lleva a cabo. Al imbibir las semillas en agua destilada durante 24 h se reblandeció la testa de la semilla, lo que

permitió extraer con mayor facilidad el embrión. Al extraer 100 embriones de las semillas de chile piquín y macerarlos, se procedió a agregarles el reactivo de DNA cycle test con la finalidad de teñir el DNA y así observarlos en el citómetro de flujo, para ello se necesitaban al menos de 1,000 a 3,000 eventos para su lectura, considerando que cada evento corresponde a una célula. Los valores porcentuales obtenidos de las semillas almacenadas a 4°C con 0 meses de edad fueron 21.00 ± 29.27 , mientras que a 24°C fue 22.96 ± 31.63 , por lo que no hubieron diferencias significativas en la temperatura de almacenamiento, respecto a las semillas con 3 meses de almacenamiento fue 23.77 ± 27.34 a 4°C, mientras que a 24°C fue 31.38 ± 34.16 , finalmente se observó que a los 6 meses de almacenamiento a 4°C y 24°C no existen diferencias significativas en la temperatura de almacenamiento (Tabla 4).

Respecto al almacenamiento de semillas a 4°C, se observó que las semillas de 0 meses de edad, el 68.40% se encontraba en la fase G0, es decir en latencia, mientras que el 0.83% se encontraba en mitosis, es decir que las células estaban en división celular (Tabla 5). Respecto a las semillas almacenadas durante 3 meses se observó que se incrementó la cantidad de células que estaban en división celular ya que se reportó un valor de 2.33% y al evaluar las semillas almacenadas durante 6 meses se observó que el 4.30% se encontraba en mitosis, es decir que conforme avanzaba la edad de almacenamiento de la semilla, se incrementaba el número de células que estaban en división celular. Asimismo se observó que había más células en la etapa G0, que indica que las células están en latencia, es decir, están vivas, pero aún no entran en división celular.

De acuerdo a Galbraith et al. (1991), las hojas jóvenes usualmente presentan sus células en la fase G0/G1 del ciclo celular, caso similar sucede con las radículas que por ser tejidos jóvenes sus células se encuentran en la primera fase de división celular, mientras que la lectura de hojas adultas puede confundir el análisis de los resultados (Sliwinska et al. 2005).

Tabla 4. Efecto de la temperatura en la edad de almacenamiento de semillas de chile piquín durante el ciclo celular.

Meses	Temperatura	
	4°C	24°C
0	21.00±29.27a	22.96±31.63a
3	23.77±27.34a	31.38±34.16b
6	23.08±30.53a	24.25±30.65a

Semillas de chile piquín almacenadas durante 0, 3 y 6 meses a 4°C y 24°C. Efecto de la temperatura en la edad de almacenamiento: Los valores son media y desviación estándar de la edad de almacenamiento. Diferentes letras dentro de la columna muestran diferencias significativas entre temperaturas.

Tabla 5. Valor porcentual de división celular en cada fase de ciclo celular a 4°C.

Edad de almacenamiento (meses)	Subfase G0	Fase G0	Interfase	Mitosis
0	11.83±4.92a	68.40±9.57a	2.96±1.78a	0.83±0.15a
3	23.96±10.11b	65.73±4.83a	3.06±3.58a	2.33±0.30b
6	11.66±2.21a	73.36±0.50a	3.00±0.45a	4.30±0.10b

Semillas de chile piquín almacenadas durante 0, 3 y 6 meses a 4°C. Efecto de la temperatura en la edad de almacenamiento y diferentes etapas de división celular: Los valores son media y desviación estándar. Diferentes letras dentro de la columna muestran diferencias significativas entre edad de almacenamiento.

Referente a las semillas almacenadas a 24°C, se observó que la gran mayoría se encontraba en la fase G0, es decir que estaban en latencia y aún no entraban en la etapa de división celular, sin embargo, se observó que de igual manera, conforme aumentaba la edad de almacenamiento de la semilla, entraban más semillas en mitosis (Tabla 6). Se registró que en la edad de 6 meses de almacenamiento de la semilla el 5.03% de las células estaban en división celular. Cabe mencionar, que existen diferencias significativas ($p \leq 0.50$) entre la temperatura de almacenamiento (4°C y 24°C) y la etapa de ciclo celular.

Tabla 6. Valor porcentual de división celular en cada fase de ciclo celular a 24°C.

Edad de almacenamiento (meses)	Subfase G0	Fase G0	Interfase	Mitosis
0	11.36±4.06a	74.86±4.21a	4.73±0.15a	0.90±0.20a
3	15.96±31.64a	69.56±1.40a	0.96±0.83b	3.03±0.15b
6	13.60±3.62a	74.60±0.60a	3.76±0.25a	5.03±0.25b

Semillas de chile piquín almacenadas durante 0, 3 y 6 meses a 24°C. Efecto de la temperatura en la edad de almacenamiento y diferentes etapas de división celular: Los valores son media y desviación estándar. Diferentes letras dentro de la columna muestran diferencias significativas entre edad de almacenamiento.

Ya que se observó que a 24°C había mayor valor porcentual de células que se encontraban en mitosis que aquellas células almacenadas a 4°C. Es decir, que a bajas temperaturas se ralentizaba el metabolismo celular. Sin embargo, De Castro et al. (2001), al trabajar con semillas que presentaban dormancia, no pudieron identificar ninguna actividad durante el ciclo celular en los embriones. Por otra parte, De Castro et al. (1995), observaron que al transferir las semillas a una temperatura de 25°C después de un tratamiento de enfriamiento, se iniciaba el proceso de síntesis de DNA, la cual indicaba el inicio del proceso de germinación. De Castro et al. (2000), mencionan que las semillas de tomate no durmientes inician la germinación con la elongación de la radícula 48 h después de la imbibición, sin embargo, la síntesis de DNA inicia 12 h después de la imbibición, lo cual indica que la síntesis de DNA es paralela al proceso de iniciación de crecimiento del embrión a través de la expansión celular, antes de que ocurra la mitosis, la cual se puede observar a 24 h de imbibición en semillas de tomate, la germinación termina cuando se termina la expansión celular así como la división celular. Sin embargo, de manera simultánea a la expansión celular, se requieren divisiones mitóticas para la germinación y crecimiento de la plántula.

La detención de la actividad del ciclo celular en la fase G1 no está relacionada directamente con el contenido hídrico de la semilla, sino que además la germinación es regulada por hormonas como ABA y GA (Karseen y Lacka 1986), ya que, durante la madurez de la semilla, ABA induce la dormancia en semillas ortodoxas (Goldbach 1979). Según Evans (1984) ABA inhibe la división celular y por lo tanto puede tener un papel muy importante en la detención de la división celular en semillas (Bouvier-Durand

y Come 1989). Deltour (1985) menciona que la detención de la actividad en el ciclo celular en G1 tiene un significado fisiológico ya que en esta etapa al detenerse la fase G1 las semillas se vuelven más resistentes a las condiciones de estrés. Las células que están en la fase G2 son más sensibles a factores como la radiación y radicales libres. De acuerdo a experimentos realizados por Lanteri et al. (1993) con *Lycopersicon esculentum*, *Capsicum annuum* y *Dactylis glomerata* son las células de la punta de la raíz el primer tejido que entra a la fase de división nuclear una vez que las semillas son imbibidas en agua o son sumergidas en una solución osmótica. Durante la germinación, el elevado contenido de agua puede conducir a la actividad del ciclo celular e inducir el inicio de la germinación, es posible que durante la maduración y las condiciones externas del almacenamiento de las semillas afecten la proporción de células embrionarias 2C/4C. Otros investigadores como Bino et al. (1993) emplearon la citometría de flujo para evaluar el efecto del almacenamiento en los cambios de la proporción 4C/2C en tejidos de semillas, de esta manera pudieron evaluar la relación entre funciones celulares y el nivel de DNA para una mejor comprensión de los procesos fisiológicos en la semilla.

Tanto Bino et al. (1992) y Lanteri et al. (1993) al trabajar con semillas de tomate y chile, respectivamente, encontraron que las células embrionarias maduras de especies durmientes se encontraban en la fase G1 de división celular. Al embeber semillas en agua, detectaron que el nivel de DNA había cambiado a 4C, antes de que la radícula emergiera a través de la cubierta seminal. Sin embargo, en las primeras etapas de desarrollo de la semilla de sicomoro la cantidad de DNA era 8C, mientras que en las posteriores etapas de desarrollo se mantuvo a 2C/4C.

Por otro lado, Finch-Savage et al. (1998) realizaron ensayos de citometría de flujo con embriones maduros de especies de *Acer platanoides* (maple noruego) y *Acer pseudoplatanus* (sicomoro) observaron dos picos que corresponden a niveles de DNA 2C y 4C. Sin embargo, en embriones maduros de cereza (*Prunus avium*) identificaron un pico de 2C en el nivel de DNA, asimismo, las células de la punta de la raíz mostraron niveles de DNA de 2C. Sin embargo, al estratificar los embriones durante dos semanas a 20°C y después nueve semanas a 3°C observaron que no hubo división celular. Sin

embargo, después de doce semanas a 3°C observaron un pico de 4C en la radícula de las semillas de cereza. Por el contrario, las semillas control que se mantuvieron a 20°C no duplicaron su DNA.

Para Lanteri et al. (1994) y Özbingöl et al. (1999), la inducción de la replicación de DNA durante la imbibición es inversamente proporcional al contenido de agua en las semillas. Así, por ejemplo, en semillas de tomate las semillas que se encuentran en la fase 4C del núcleo presentan contenido de agua similar a las semillas secas que no han sido imbibidas. Sin embargo, el contenido de DNA es diferente dependiendo de la especie y del órgano que se estudie pues en la plúmula se encontró un contenido de DNA de 4C del 22% y en la radícula de 8%, demostrando que la actividad del ciclo celular es detenida en diferentes fases dependiendo del órgano.

Gendreau et al. (2008) emplearon la citometría de flujo para identificar la actividad del ciclo celular la cual inició antes de la elongación de la radícula. Al trabajar, con embriones de la punta de la radícula de maíz, observaron que el ciclo celular se activaba a las 6 h de imbibición y alcanzaba la fase G2 a las 15 h de imbibición con 35% de DNA, asimismo observaron que conforme crecía la radícula la proporción de DNA aumentaba en la fase G2, de igual forma Sliwinska (2000) observó resultados similares en remolacha.

8. CONCLUSIONES

1. Las hojas maduras mostraron en los meses de agosto y octubre su mayor prominencia en la planta con una presencia de 95% y 93.75% respectivamente, en tanto que marzo presentó la menor presencia de hojas adultas con 16.56%.
2. Respecto a la brotación de hojas, esta alcanzó su máxima incidencia en el mes de febrero, mientras que julio presentó el valor más bajo.
3. Referente al botón floral, el mes de octubre registró 82.5%, mientras que la floración alcanzó valor de 25% en los meses de agosto y octubre. Sin embargo, en febrero alcanzó su máxima aparición, 41.25%.
4. Los frutos en inicio de desarrollo en febrero mostraron un valor de 35%, siendo de julio a octubre cuando presenta menor porcentaje (25%). Respecto a los frutos en pleno desarrollo, en abril alcanzaron el valor 30%.
5. Respecto a la caracterización morfológica de los frutos y semillas no se encontraron diferencias entre ellos.
6. Respecto al contenido de kinetina, se observó que a los 9 meses de almacenamiento de la semilla hay mayor contenido de kinetina, tanto a 4°C como a 24°C. Sin embargo, a los 12 meses de almacenamiento de la semilla, el contenido empieza a disminuir independientemente de la temperatura.
7. El contenido de triptófano a los 9 meses de almacenamiento de la semilla en ambas temperaturas de almacenamiento (4°C y 24°C) registró el valor más alto, en comparación con otras edades de almacenamiento. Sin embargo, a los 12 meses de almacenamiento, el contenido empezó a disminuir.
8. El contenido de la fitohormona giberelina aumenta conforme la semilla madura fisiológicamente, siendo a los 9 meses de edad de la semilla cuando se registró el mayor contenido, independientemente de la temperatura de almacenamiento. De igual manera, a los 12 meses de edad de la semilla, el contenido de giberelinas disminuyó.
9. El contenido de las fitohormonas kinetina, triptófano y giberelinas durante el almacenamiento de las semillas a 24°C es mayor que a 4°C.
10. El resguardo de las semillas a 4°C disminuye el metabolismo de las células, por lo que el contenido de hormonas vegetales es menor.
11. El almacenamiento de la semilla a temperatura ambiente permite que la actividad metabólica continúe, por lo que hay mayor contenido de hormonas.
12. A mayor edad de la semilla, menor viabilidad.

13. Existe una relación fisiológica y bioquímica entre la germinación y el contenido de hormonas vegetales, pues a mayor contenido de hormonas vegetales, mayor germinación, de lo contrario a menor contenido de hormonas vegetales menor germinación.
14. Las hormonas vegetales kinetina, triptófano y giberelinas actúan de manera sinérgica en la germinación.
15. Respecto a la germinación de semillas, la adición de ácido giberélico aumentó la velocidad y porcentaje de germinación, sin importar la edad y temperatura de almacenamiento.
16. Las semillas que fueron almacenadas a 4°C presentaron valores de germinación menor, en comparación de las semillas almacenadas a 24°C.
17. Las semillas de 9 meses de almacenamiento presentaron mayor porcentaje de germinación, tanto a 4°C como a 24°C.
18. El porcentaje de germinación empezó a disminuir en las semillas almacenadas a 12 meses de edad, sin importar temperatura de almacenamiento y tratamiento.
19. Respecto al ciclo celular, los embriones almacenados a 24°C muestran más actividad celular que aquellas almacenadas a 4°C.
20. Los embriones de 6 meses de almacenamiento presentan mayor actividad mitótica, en comparación con los embriones de 0 y 3 meses de almacenamiento, tanto a 4°C como a 24°C.
21. Hay una gran cantidad de embriones que se encuentran en la fase G0, es decir en estado quiescente, la célula está viva pero aún no entra en división celular.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Addicot FT. 1982. Abscission. Univ. California Press, Berkeley.
2. Agera, S.I.N. and Dau, J.H. 2012. Seed processing, seed banks and seed conservation: a review. *Nigeria Journal of Education, Health and Technology Research*. 3: 9-18.
3. Alexieva, V. S., & Karanov, E. N. 1992. Effect of N-(2-chloro-4-pyridyl) N'-phenylurea (4-PU-30) on wheat yield. *Physiology and Biochemistry of Cytokinins in Plants, Sofia*, 249-251.
4. Almanza, E. J. G. 1998. Estudios ecofisiológicos, métodos de propagación y productividad del chile piquín (*Capsicum annuum L. var aviculare Dierb.*) D. & E. Tesis, Esc. De graduados Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
5. Amasino, R. M. 1996. Control of flowering time in plants. *Current opinion in genetics & development*, 6(4), 480-487. Anderson, B.J.; H.R. Akcakaya, M.B. Araujo, D.A. Fordham, E.M. Martinez., W. Thuiller y B.W. Brook, 2009. "Dynamics of range margins for metapopulations under climate change". *Proc. Royal. Soc. London Serie B*, 276: 1415-1420.
6. Andreoli, C. and Khan, A. A. 1999. Matriconditioning integrated with gibberellic acid to hasten seed germination and improve stand establishment of pepper and tomato. *Pesquisa Agrop. Bras.* 34:1953-1958.
7. Andrews, S.J. 1985. Peppers (The domesticated *Capsicum*). Univ. of Texas Press, Austin.
8. Araiza Lizarde N., Araiza Lizarde E., Martinez Martinez J. G. 2011. Evaluación de la germinación y crecimiento de Plántula de Chiltepín (*Capsicum annuum L* variedad *glabriusculum*) en invernadero. *Rev. Colomb. Biotecnol.*, 13:170-175.
9. Ayala V., M. J. 2012. Análisis de crecimiento y calidad de semillas de tres tipos de chile (*Capsicum annuum L.*). Tesis Maestro en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco Estado de México. 78p.

10. Ayala-Villegas, M. J., Ayala-Garay, Ó. J., Aguilar-Rincón, V. H., & Corona-Torres, T. 2014. Evolución de la calidad de semilla de *Capsicum annuum* L. durante su desarrollo en el fruto. *Revista fitotecnia mexicana*, 37(1), 79-87.
11. Bañuelos, N., Salcido, L., Gardea, A. 2008. Estudios Sociales. Etnobotánica del chiltepín. Universidad de Sonora., pp. 2-29.
12. Bañuelos-Flores, N. 2005. El chiltepín, maná de los sonorenses, etnobotánica de *Capsicum annuum* L. var *aviculare* (Dierbach D' Arcy & Eshbaug). V Simposio Internacional sobre la Flora Silvestre en Zonas Áridas
13. Barciszewski J, Siboska G, Clark BFC, Rattan SIS. 2000. Cytokinin formation by oxidative metabolism. *J Plant Physiol* 157: 587–588.
14. Bartel B, LeClere S, Magidin M, Zolman BK. 2001. Inputs to the active indole-3-acetic acid pool: De novo synthesis, conjugate hydrolysis, and indole-3-butyric acid b-oxidation. *J Plant Growth Regul* 20: 198-216.
15. Barten J.H.M., J.W. Scott y N. Kender. 1992. Low temperatures induce rough blossom-end scarring of tomato fruit during early flower development. Characterization of blossom-end morphology genes in tomato and their usefulness in breeding for smooth blossom-end scars. *J Am Soc Horti Sci* 117: 298-303.
16. Baskin, J.M. and Baskin, C.C. 2004. A Classification System or Seed Dormancy. *Seed Science Research*, 14:1-16.
17. Baskin CC, Baskin JM. 2004. Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic Press, San Diego, California, USA.
18. Bentsink, L. and Koorneef, M. 2008. Seed dormancy and germination. *In*: Somerville, C. R. and Meyerowitz, E. M. (eds). The arabidopsis book. American Society of Plant Biologists.
19. Berke, T. 2001. Seed production of open-pollinated pepper lines.
20. Berke, T. G. 2000. Multiplying seed of pepper lines. International cooperator's guide. Asian vegetable research & development center. AVRDC. 40 p.
21. Besnier, R. F. 1989. Semillas. Biología y tecnología. Editorial Mundi-Prensa. España. 164-167 pp.

22. Bewley J. D., K. J. Bradford, W. M. H Hilhorst and H. Nonogaky. 2013. Seed. Physiology of development, germination and dormancy. Third Edition. Springer. New York, U.S.A. 392 p. Seed. Physiology of development, germination and dormancy. Third Edition. Springer. New York, U.S.A. 392 p.
23. Bewley JD. 1997. Breaking down the walls: a role for endo- β -mannase in release from seed dormancy? *Trends Plant Science* 2:464–469.
24. Bewley, J.D., Black, M. 1994. Seeds: Physiology of Development and Germination. 2nd Ed. - Plenum Press, New York.
25. Bialek K, Michalczyk L, Cohen JD. 1992. Auxin biosynthesis during seed germination in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiology*. 100:509-517.
26. Bino R. J., S. Lanteri, H. A. Verhoeven, H. L. Kraak. 1993. Flow Cytometric Determination of Nuclear Replication Stage in Seed Tissues, *Annals of Botany*, Volume 72, Issue 2, Pages 181–187.
27. Bino RJ, Bergervoet JHW, Lanteri S. 1995. The use of cell cycle activity as an early indicator for the start of the germination process. In: *Proceedings of Fourth National Symposium on Stand Establishment of Horticultural Crops*, Monterey, California, 11-17.
28. Bino, R.J., De Vries, J.N., Kraak, H.L., Van Pijlen, J.G. 1992. Flow cytometric determination of nuclear replication stages in tomato seeds during priming and germination. *Ann. Bot.* 69: 231-236.
29. Biondi, S., Canciani, L., & Bagni, N. 1984. Uptake and translocation of benzyladenine by elm shoots cultured in vitro. *Canadian Journal of Botany*, 62(11), 2385-2390.
30. Blakesley, D. 1991. Uptake and metabolism of 6-benzyladenine in shoot cultures of *Musa* and *Rhododendron*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 25(1), 69-74.
31. Bollmark, M., & Eliasson, L. 1990. Ethylene accelerates the breakdown of cytokinins and thereby stimulates rooting in Norway spruce hypocotyl cuttings. *Physiologia Plantarum*, 80(4), 534-540.
32. Bonner F. T.; Vozzo, J. A.; Elam, W. W. and Land S. B., Jr. 1994. Tree seed technology course, Instructor's Manual. United States Department of Agriculture.

- Forest Service. Southern Forest Experiment Station. New Orleans, Louisiana. General Technical Report SO-106. 160p.
33. Borkowska, B., & Litwinczuk, W. 1993. Activity of thidiazuron in vitro shoot cultures of *Prunus* sp. and *Morus alba*. *Biologia plantarum*, 35(1), 63-67.
 34. Bosland, P. W. and Votava, E. J. 2000. Peppers: vegetable and spices *Capsicums*. Crop production science in horticulture. CAB International Publishing. Wallingford, England. 204 p.
 35. Bouvier-Durand M, Real M, Come D. 1989. Changes in nuclear activity upon secondary dormancy induction by abscisic acid in apple embryo. *Plant Physiol Biochem* 27:511–518.
 36. Buitink, J., Leger, J. J., Guisle, I., Vu, B. L., Wuillème, S., Lamirault, G., & Leprince, O. 2006. Transcriptome profiling uncovers metabolic and regulatory processes occurring during the transition from desiccation-sensitive to desiccation-tolerant stages in *Medicago truncatula* seeds. *The Plant Journal*, 47(5), 735-750.
 37. Cabañas C., B.; G. Galindo G.; F. Mojarro D.; A.G. Bravo L.; y J.A. Zegbe D.; 2005. Fertilización y arreglo topológico en el rendimiento y calidad de frutos seco de chile Mirasol en Zacatecas, México. pp 226-231. In: Segunda Convención Mundial del Chile. Zacatecas, Zac., México.
 38. Campbell MA, JC Suttle, and TW Sell. 1996. Changes in cell cycle status and expression of p34^{cdc2} kinase during potato tuber meristem dormancy. *Physiol Plant* 98:743–752.
 39. Carrillo, Erik Pablo, Mejía Contreras, José Apolinar, Carballo Carballo, Aquiles, García de los Santos, Gabino, Aguilar Rincón, Víctor Heber, & Corona Torres, Tarsicio. 2009. Calidad de semilla en colectas de chile de agua (*Capsicum annuum* L.) de los Valles Centrales de Oaxaca, México. *Agricultura técnica en México*, 35(3), 257-266.
 40. Carter, A. K. and Vavrina, C. S. 2000. High temperature inhibits germination of Jalapeno and Cayenne pepper.

41. Castillo, G., Altuna, B., Michelena, G., Sánchez-Bravo, J., & Acosta, M. 2005. Cuantificación del contenido de ácido indolacético (AIA) en un caldo de fermentación microbiana. In *Anales de Biología* (Vol. 27, pp. 137-142).
42. Champagnat P. 1989. Rest and activity in vegetative buds of trees. In: Dreyer E, Aussenac G, Bonnet-Masimbert M, Dizengremel P, Favre JM, Garrec JP, Le tacon F, Martin F (eds) *Forest tree physiology*. An Scien For, pp 9–26
43. Chen, C. M., Ertl, J. R., Leisner, S. M., & Chang, C. C. 1985. Localization of cytokinin biosynthetic sites in pea plants and carrot roots. *Plant Physiology*, 78(3), 510-513.
44. Chen, S. Y., Chien, C. T., Baskin, J. M., & Baskin, C. C. 2009. Storage behavior and changes in concentrations of abscisic acid and gibberellins during dormancy break and germination in seeds of *Phellodendron amurense* var. *wilsonii* (Rutaceae). *Tree physiology*, 30(2), 275-284.
45. Chen, S. Y., Kuo, S. R., & Chien, C. T. 2008. Roles of gibberellins and abscisic acid in dormancy and germination of red bayberry (*Myrica rubra*) seeds. *Tree Physiology*, 28(9), 1431-1439.
46. Chia, T. Y., Pike, M. J., & Rawsthorne, S. 2005. Storage oil breakdown during embryo development of *Brassica napus* (L.). *Journal of experimental botany*, 56(415), 1285-1296.
47. Chiwocha SDS, Cutler AJ, Abrams SR, Ambrose SJ, Yang J, Ross ARS, Kermode AR. 2005. The *etr1-2* mutation in *Arabidopsis thaliana* affects the abscisic acid, auxin, cytokinin and gibberellin metabolic pathways during maintenance of seed dormancy, moist-chilling and germination. *Plant J* 42: 35-48
48. Chung, S. J. 1985. Promotion of red pepper (*Capsicum annuum* L.) seed germination by aerated water column. 1. Effects of water temperature and gibberelic acid (GA₃). Theses of Chonnan University 304 p.
49. Cochran, H. L. 1974. Effect of seed size on uniformity of pimienta transplants (*Capsicum annuum* L.) at harvest time. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 99:234–235.
50. Cohen JD, Bandurski RS, 1982. Chemistry and physiology of the bound auxins. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 33:403-430.

51. Cohen JD, Slovin JP, Hendrickson AM. 2003. Two genetically discrete pathways convert tryptophan to auxin: more redundancy in auxin biosynthesis. *Trends Plant Sci* 8 197-199.
52. Coleman, W. K. 1983. An evaluation of bromoethane for breaking tuber dormancy I. in potato. *Am. J. Potato Res.* 60: 161-167.
53. Colley M.; Navazio, J. and DiPietro, L. 2010. A seed saving guide for gardeners and farmers. Organic Seed Alliance. 30p.
54. CONABIO. 2006. Sistema Integrado de Información Taxonómica (SIIT). Género *Capsicum*.
55. Conger BV y Carabia JV. 1978. Proportions of 2C and 4C nuclei in the root and shoot of dormant and germinated embryos of *Festuca aeundinaceae* and *Dactylis glomerata*. *Environmental and Experimental Botany* 18:55-59.
56. Consejo Nacional de Productores de Chile (CONAPROCH). 2005. Documentos de CONAPROCH en el 2003.
57. Cooke TJ, Poli D, Sztein AE, Cohen JD. 2002. Evolutionary patterns in auxin action. *Plant Mol Biol.* 49:319-338.
58. Copeland, O. L. and McDonald, B. M. 1995. Principles of seed science and technology. Third edition. Chapman and Hall. New York, USA 409 p.
59. Coronado G.M.A., Córdova Y.A., García P.M., Santiago H.V.G., Vásquez N.R.A. 2013. Estrategias de Mercado para productos elaborados a base de Chiltepín en la sierra de Sonora. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 32: 359-370.
60. Cortez-Baheza, E.; Peraza-Luna, F.; Hernández-Álvarez, M. I.; Aguado-Santacruz, G. A.; Torres-Pacheco, I.; González-Chavira, M. M.; Guevara-Olvera, L. and Guevara-González, R. G. 2007. Profiling the transcriptome in (*Capsicum annuum* L.) seeds during osmopriming. *Am. J. Plant Physiol.* 2(2):99-106.
61. Crozier A, Moritz T. 1999. Physico-chemical methods of plant hormone analysis. In PJJ Hooykaas, MA Hall, KR Libbenga, eds, *Biochemistry and Molecular Biology of Plant Hormones*. Elsevier, Amsterdam, pp 23-60.

62. D'Arcy WG, Eshbaugh WH. 1974. New World peppers (*Capsicum*, Solanaceae) north of Colombia: a resume. *Baileya* 19: 93-103. de poblaciones silvestres de Chile del noroeste de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 31: 323-330.
63. D'Arcy, W. G., J. L. Gentry y J. E. Averett. 1991. The Solanaceae since 1976, with a Review of its Biogeography. Pages 75-137, in J.G. Hawkes, R.N. Lester, M. Nee & N. Estrada R. (eds.) *Solanaceae III Taxonomy, Chemistry, Evolution*. Royal Botanical Garden, Kew.
64. D'Arcy W. G. y Eshbaugh W.H. 1973. The name for the common pepper. *Phytologia* 25:350.
65. Darzynkiewicz Z, Huang X, Okafuji M, King MA. 2004. Cytometric methods to detect apoptosis. *Methods Cell Biol.* 75:307–341.
66. Davies, P.J., 1995. The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In: Davis, P.J. (Ed.), *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, second ed. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 1–12.
67. De Castro RD, van Lammeren AAM, Groot SPC, Bino RJ, Hilhorst HWM. 2000. Cell division and subsequent radicle protrusion in tomato seeds are inhibited by osmotic stress but DNA synthesis and formation of microtubular cytoskeleton are not. *Plant Physiol* 122: 327–335.
68. De Castro RD, Zheng X, Bergervoet JHW, De Vos CHR, Bino RJ. 1995. β -Tubulin accumulation and DNA replication in imbibing tomato seeds. *Plant Physiol* 109: 499–504.
69. De Castro, R.D. 1998. A functional analysis of cell cycle events in developing and germinating tomato seeds. PhD Thesis, Wageningen Agricultural University.
70. De Castro, R.D.; Bino, R.J.; Jing, H-C.; Kieft, H. & Hilhorst, H.W.M. 2001. Depth Of dormancy in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds is related to the progression of the cell cycle prior to the induction of dormancy. *Seed Science Research*, *in press*.
71. De la Rosa, M., Arce, L., Villarreal, J. A., Ibarra, L., & Lozano, J. 2012. Germinación de semillas de Chile simojovel (*Capsicum annuum* L.) previamente expuestas a NaCl y ácido giberélico. *Phyton (Buenos Aires)*, 81(2), 165-168.

72. Dell'Aquila A, Savino G, De Leo P. 1978. Metabolic changes induced by hydration-dehydration presowing treatment in wheat embryos. *Plant and Cell Physiology* 19: 348-354.
73. Deltour, R. 1985. Nuclear activation during early germination of the higher plant embryo. *J. Cell Sci.* **75**: 43-83.
74. Detlef W. 1995. The genetics of flower development: from floral induction to ovule morphogenesis. *Annual review of genetics*, 29(1), 19-39.
75. Dharmatti, P.R. y G.N. Kulkarni. 1989. Physiological maturation studies in bell pepper (*Capsicum annuum* L. *grossum* Sendt) Hort. Abst. 59:663-664.
76. Djilianov, D., Gerrits, M. M., Ivanova, A., van Onckelen, H. A. and de Klerk, G.-J. M. 1994. ABA content and sensitivity during the development of dormancy in lily bulbets regenerated in vitro. *Physiologia Plantarum*, 91: 639–644
77. Dobrev, P. I., Havlíček, L., Vágner, M., Malbeck, J., & Kamínek, M. 2005. Purification and determination of plant hormones auxin and abscisic acid using solid phase extraction and two-dimensional high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1075(1), 159-166.
78. Doijode, S. D. 1991. Effect of partial vacuum on viability of sweet pepper seeds. *Capsicum Newsletter* 6: 62–63.
79. Drew, N.W. Pammenter, P. Berjak. 2000. “Sub-imbibed” storage is not an option for extending longevity of recalcitrant seeds of the tropical species *Trichilia dregeana* Sond, *Seed Sci. Res.* 10:355-363.
80. Edlund A, Eklöf S, Sundberg B, Moritz T, Sandberg G. 1995. A microscale technique for gas chromatography-mass spectrometry measurements of picogram amounts of indole-3-acetic acid in plant tissues. *Plant Physiol* 108: 1043-1047.
81. Edwards R. L. and F. J. Sundstrom. 1987. Afterripening and harvesting effects on Tabasco pepper seed germination performance. *HortScience* 22:473-475.
82. Ellis R. H. and Hong, T. D. 2006. Temperature sensitivity of the low-moisture-content limit to negative seed longevity–moisture content relationships in hermetic storage. *Annals of Botany* 97: 785–791.

83. Emery RJN, Leport L, Barton JE, Turner NC, Atkins CA. 1998. *cis*-Isomers of Cytokinins Predominate in Chickpea Seeds throughout Their Development. *Plant Physiology*. 17(4):1515-1523.
84. Emery, R.J. Neil, Qifu Ma, and Craig A. Atkins. 2000. "The Forms and Sources of Cytokinins in Developing White Lupine Seeds and Fruits." *Plant Physiology* 123.4: 1593-1604.
85. Epstein E, Chen K-H, Cohen DJ. 1989. Identification of indole-3-butyric acid as an endogenous constituent of maize kernels and leaves. *J. Plant Growth Regul.*, 8: 215-223.
86. Epstein, E., & Ludwig- Müller, J. 1993. Indole- 3- butyric acid in plants: occurrence, synthesis, metabolism and transport. *Physiologia plantarum*, 88(2), 382-389.
87. Eshbaugh W. H. 1993. Peppers: History and exploitation of a serendipitous new crop discovery. Pp. 132-139 in J. Janick and J.E. Simon (eds.). *New Crops*. John Wiley & Sons, New York.
88. Esparza, E. 1987. Muestra de la flora de Tabasco. Gobierno del estado de Tabasco. pp. 40.
89. Evans, M.L. 1984 Functions of hormones at the cellular level of organization. In: *Hormonal Regulation of Development II. Encyclopedia of Plant Physiology, New Series*, Vol. **10** (Scott, T.K., ed.). Berlin: Springer-Verlag, pp. 22 79.
90. Ewart A. 1908. On the longevity of seeds. *Proceedings of the Royal Society Victoria*, 21:1-210.
91. Fait, A., Angelovici, R., Less, H., Ohad, I., Urbanczyk-Wochniak, E., Fernie, A. R., & Galili, G. 2006. *Arabidopsis* Seed Development and Germination Is Associated with Temporally Distinct Metabolic Switches. *Plant Physiology*, 142(3), 839–854.
92. FAO. 2010. Seeds in Emergencies: A technical handbook.
93. Faust, M. 1989. *Physiology of temperate zone fruit trees*. John Wiley & Sons, Inc.
94. Fenner M. 1991. The effects of the parent environment on seed germinability. *Seed Science Research* 1:75–84.

95. Ferguson J. M.; Keys R. D.; Mchughlin, F. W.; Warren J. M. 1991. Seed and seed quality, a guide for seed producers, farmers and home gardeners. Cooperative Extension Service. North Carolina State University. Publication Number AG-448. 26p.
96. Feung, C. S., Hamilton, R. H., & Mumma, R. O. 1973. Metabolism of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. V. Identification of metabolites in soybean callus tissue cultures. *Journal of agricultural and food chemistry*, 21(4), 637-640.
97. Finch- Savage, W. E., & Leubner- Metzger, G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New phytologist*, 171(3), 501-523.
98. Finch-Savage, W.E., Bergervoet, J.H.W., Bino, R.J., Clay, H.A., Groot, S.P.C. 1998. Nuclear replication activity during seed development, dormancy breakage and germination in three tree species: Norway maple (*Acer platanoides* L.), sycamore (*Acer pseudoplatanus* L.) and cherry (*Prunus avium* L.). *Ann. Bot.* 81: 519-526.
99. Finkelstein, R., Reeves, W., Ariizumi, T., & Steber, C. 2008. Molecular aspects of seed dormancy. *Annual review of plant biology*, 59.
100. Fisher, I. 1982. Studies of some factors influencing germinating power in pepper seeds during storage *Capsicum Newsletter* Num. 1. Institute of Plant Breeding and Seed Production. Turin – Italy. p 83-84.
101. Fournier LA. 1978. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. *Cespedesia*, 7 (25-26): 21-23.
102. Galbraith DW, Harkins KR, Knapp S. 1991. Systemic endopolyploidy in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* 96: 985–989.
103. Galbraith DW, Harkins KR, Maddox JM, Ayres NM, Sharma DP, Firoozabady E. 1983. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. *Science* 220:1049–1051.
104. Galbraith, D. W. 2004. Cytometry and plant sciences: A personal retrospective. *Cytometry*, 58A: 37–44.
105. García F.A., Montes H.S. y Rangel L.J.A. 2004. Calidad fisiológica de la semilla de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *aviculare*) en dos localidades de

Querétaro. Memorias de la Primera convención mundial del chile, 27-29 junio León, pp: 49-53, Guanajuato.

106. García Federico A., Montes Hernández S., Rangel Lucio J.A., García Moya E., Mendoza Elos M. 2010. Respuesta fisiológica de la semilla chile piquín [*Capsicum annuum* var. *Glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill] al ácido giberélico e hidrotermia.
107. Garfinkel, D. J., Simpson, R. B., Ream, L. W., White, F. F., Gordon, M. P., & Nester, E. W. 1981. Genetic analysis of crown gall: fine structure map of the T-DNA by site-directed mutagenesis. *Cell* 27(1): 143-153.
108. Garrido, G., Ramón Guerrero, J., Angel Cano, E., Acosta, M., & Sánchez- Bravo, J. 2002. Origin and basipetal transport of the IAA responsible for rooting of carnation cuttings. *Physiologia Plantarum*, 114(2), 303-312.
109. Gendreau E, Romaniello S, Barad S, Leymarie J, Benech-Arnold R, Corbineau F. 2008. Regulation of cell cycle activity in the embryo of barley seeds during germination as related to grain hydration *Journal of Experimental Botany* 59 203–212.
110. Gentry, S. H. 1942. Rio Mayo plants: A study the flora and vegetation of the Rio Mayo, Sonora. Publication 527. Carnegie Institution of Washington. p. 234.
111. Germplasm Resources Information Network (GRIN). 1997. Taxon: *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill.
112. Goldbach H. 1979. Imbibed storage of *Melicoccus bijugatus* and *Eugenia brasiliensis* (*E. dombeyi*) using abscisic acid as a germination inhibitor. *Seed Sci. Technol.* 7:403-406.
113. González-Cortés N, Jiménez VR, Guerra BEC, Silos EH, De la Cruz PE. 2015. Germinación del chile amashito (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*) en el sureste mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 196(1): 2211-2218.
114. Górník, K., De Castro, R.D., Liu, Y., Bino, R.J., Groot, S.P.C. 1997. Inhibition of cell division during cabbage (*Brassica oleracea* L.) seed germination. *Seed Sci. Res.* 7: 333-340.
115. Gregg B. R. and van Gastel, A.J.G. 2000. Seed Production Manual for the Informal Sector. West Africa Seed Development Unit Publication No. 4, 60 p.

116. Greyson, R. I., & Raman, K. 1975. Differential sensitivity of "double" and "single" flowers of *Nigella damascena* (Ranunculaceae) to emasculation and to GA3. *American Journal of Botany*, 531-536.
117. Gruber, N. y J.N. Galloway, 2008. "An earth system perspective of the global nitrogen cycle". *Nature*, 451: 293-296.
118. Guerrero, J. R.; García, P.; Sánchez-Bravo, J.; Acosta; M.; Arnao, M. 2001. Quantitation of Indole-3-acetic acid by LC with electrochemical detection in etiolated hypocotyls of *Lupinus albus*. *J. Liq. Chrom. And Rel. Technol.* 24 (20) p 3095-3104.
119. Gutierrez, L., Van Wuytswinkel, O., Castelain, M., & Bellini, C. 2007. Combined networks regulating seed maturation. *Trends in plant science*, 12(7), 294-300.
120. Hagen G and Guilfoyle T. 2002. Auxin-responsive gene expression: genes, promoters and regulatory factors. *Plant Molecular Biology* 49(3-4) Page 373.
121. Halinska, A., Siriska, I., & Lewak, S. 1987. Embryonal dormancy in apple seeds is controlled by free and conjugated gibberellin levels in the embryonic axis and cotyledons. *Physiologia plantarum*, 69(3), 531-534.
122. Hamilton, R. H., Hurter, J., Hall, J. K., & Ercegovich, C. D. 1971. Metabolism of phenoxyacetic acids; metabolism of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid and 2, 4, 5-trichlorophenoxyacetic acid by bean plants. *J Agr Food Chem*.
123. Han, Z., Liu, G., Rao, Q., Bai, B., Zhao, Z., Liu, H., & Wu, A. 2012. A liquid chromatography tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of acid/alkaline phytohormones in grapes. *Journal of Chromatography B*, 881, 83-89.
124. Harrington, J. F. 1972. Seed storage and longevity. En: Kozlowski, T. T. (Ed.). Seed biology. Insects, and seed collection, storage, testing, and certification, Volumen 3. Academic Press Inc. U.S.A. 422p.
125. He, Y.K., Xue, W.X., Sun, Y.D., Yu, X.H., Liu, P.L., 2000. Leafy head formation of the progenies of transgenic plants of Chinese cabbage with exogenous auxin genes. *Cell Res.* 10, 151-602.

126. Hein, M. B., Brenner, M. L., & Brun, W. A. 1984. Effects of pod removal on the transport and accumulation of abscisic acid and indole-3-acetic acid in soybean leaves. *Plant physiology*, 76(4), 955-958.
127. Heiser C. B. 1964. Los chiles y ajíes de Costa Rica y Ecuador. *Ciencia y Naturaleza* 7:50-57.
128. Heiser C. B. y B. Pickersgill. 1975. Names for the bird peppers (*Capsicum-Solanaceae*). *Baileya* 19:151-153.
129. Hendry G.A.F., W.E. Finch-Savage, P.C. Thorpe, N.M. Atherton, S.M. Buckland, K.A. Nilsson, W.E. 1992. Seel, Free radical processes and loss of seed viability during desiccation in the recalcitrant species *Quercus robur* L, *New Phytol.* 122: 273–279.
130. Hepler, P.K., Hush, J.M. 1996. Behavior of microtubules in living plant cells. *Plant. Physiol.* 112: 455-461.
131. Hernández S. V. 2004. Efecto de la luz, temperatura y ácido giberélico sobre la germinación de semillas de poblaciones de chiles silvestres. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa. Primer Convenio Mundial del Chile. 441.
132. Hernández, V. S. 2011. Los parientes silvestres del chile: su importancia biológica y cultural. En: Richterich, K. (Coord. Edi.). El chile. Protagonista de la independencia y la revolución (p. 21-26). México: Fundación Herdez.
133. Hernández-Verdugo S, Dávila P, Oyama K. 1999. Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. *Bol Soc Bot Méx* 64: 65- 84.
134. Hernández-Verdugo S., R.A. González-Sánchez, F. Porras, S. Parra-Terraza, A. Valdez-Ortiz, A. Pacheco-Olvera y R. G. López-España. 2015. Plasticidad fenotípica de poblaciones de chile silvestre (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) en respuesta a disponibilidad de luz. *Botanical Sciences*.
135. Hernández-Verdugo S., Sánchez-Peña P., Villareal Romero M. 2006. Variación entre poblaciones y años: algunos factores que promueven o regulan la

- germinación de semillas en chile silvestre. 3^{ra}. Convención Mundial de Chile. Chihuahua y Delicias, Chihuahua, México. 105-111 pp.
136. Hernández-Verdugo, S., K. Oyama y C. Vázquez-Yanes. 2001. Differentiation in seed germination among populations of *Capsicum annuum* along a latitudinal gradient in Mexico. *Plant Ecol.*, 155: 245-257.
 137. Hernández-Verdugo, S., R.G. López-España, P. Sánchez-Peña, M. Villarreal-Romero, S. Parra-Terraza, F. Porras y J.L. Corrales-Madrid, 2008. Variación fenotípica entre y dentro de poblaciones silvestres de chile del noroeste de México. *Rev. Fitotec.Mex.*, 31: 323-330.
 138. Hernández-Verdugo, Sergio, Porras, Flor, Pacheco-Olvera, Antonio, López-España, Ricardo Guillermo, Villarreal-Romero, Manuel, Parra-Terraza, Saúl, & Osuna Enciso, Tomás. 2012. Caracterización y variación ecogeográfica de poblaciones de chile (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) silvestre del noroeste de México. *Polibotánica* (33):175-191.
 139. Hilhorst, H. W. M. 2007. Definitions and hypothesis of seed dormancy. *In*: Bradford, K. and Nonogaki, H. (eds). Seed development, dormancy and germination. *Annual Plant Review*. 27:50-71.
 140. Hilhorst, H.W.M. 1995. A critical update on seed dormancy. Primary dormancy. *Seed Science Research* 5: 61–73.
 141. Hodurková, J., Vyskot, B. 2003. Histone H4 acetylation patterns during seed germination and early plant development. *Biol. Plant.* 46: 23-28.
 142. Hou, S., Zhu, J., Ding, M., & Lv, G. 2008. Simultaneous determination of gibberellic acid, indole-3-acetic acid and abscisic acid in wheat extracts by solid-phase extraction and liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Talanta* 76(4):798-802.
 143. Hu, J., H. Hu y Z. Jiang, 2010. The impacts of climate change on the wintering distribution of an endangered migratory bird. *Oecologia* 164: 555-565.
 144. Ibarra, L., G. Núñez y J. Flores. 1995. Ajuste de los coeficientes de desarrollo de cultivo de tomate para en sus diferentes etapas fenológicas cultivado en condiciones de acolchado plástico negro. *13* (2): 148-154.

145. INIFAP (Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria). 2004. Tecnología de producción del chile piquín en el noreste de México. México. Folleto técnico Núm. 29. 35 p
146. INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES (IBPGR). 1983. Genetic Resources of *Capsicum*. Roma, 49 p.
147. Jackson, D. I., & Coombe, B. G. 1966. Gibberellin-like substances in the developing apricot fruit. *Science*, 154(3746), 277-278.
148. Jacobsen JV, Pearce DW, Poole AT, Pharis RP, Mander LN. 2002. Absciscic acid, phaseic acid and gibberellin contents associated with dormancy and germination in barley. *Physiol Plant* 115:428-441.
149. Leszek J. 1997. Reguladores del crecimiento, desarrollo y resistencia en plantas/por UACH. Departamento de Fitotecnia. Instituto de Horticultura
150. Jarvis, S.B., Taylor, M.A., Bianco, J., Corbineau, F., Davies, H.V. 1997. Dormancy-breakage in seeds of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco). Support for the hypothesis that LEA gene expression is essential for this process. *J. Plant Physiol.* 151: 457-464.
151. Jones T, Nielson D. 1999. Intrapopulation Genetic Variation for Seed Dormancy in Indian Ricegrass. *Journal of Range Management*, 52(6): 646–650.
- Karssen, C.M. and Lacka, E. (1986) A revision of the hormone balance theory of seed dormancy: Studies on gibberellin and/or abscisic acid-deficient mutants of *Arabidopsis thaliana*. pp. 315–323 in Bopp, M. (Ed.) *Plant growth substances* 1985. Berlin, Springer-Verlag.
152. Karssen, C.M.; Brinkhorst-Van, D.E.R.; Swan, D.L.C.; Breckland, A.E. & Koornneef, M. 1983. Induction of Dormancy During Seed Development By Endogenous Absciscic Acid: Studies on abscisic acid deficient genotypes of *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 157: 58-165.
153. Kelley KB, Reichers DE. 2007. Recent developments in auxin biology and new opportunities for auxinic herbicide research. *Pesticide Biochem Physiol* 89:1–11.
154. Kermode AR. 1995. Regulatory mechanisms involved in transition from seed development to germination: between the embryo and the seed

- environment. En Kigel J, Galili G (Eds.) Seed Development and Germination. Dekker. Nueva York, EEUU. pp. 273-332.
155. Koenig, W.D., J.M. Knops, J. L. Dickinson y B. Zuckerber. 2009. Latitudinal decrease in acorn size in Bur oak (*Quercus macrocarpa*) is due to environmental constraints, not avian dispersal. *Can. J. Bot.*, 87: 349-356.
 156. Koorneef M, Karssen CM. 1994. Seed dormancy and germination. In: Meyerowitz EM, Somerville CR, editors. *Arabidopsis*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press 313–334.
 157. Krishna De, A. 2003. *Capsicum*: The Genus *Capsicum*. Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles Vol. 33. Taylor & Francis, London and New York. 275 pp.
 158. Kucera, B.; Cohn, M. A. and Leubner-Metzger, G. 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Sci. Res.* 15:281-307.
 159. Label, P., Maldiney, R., Sossountzov, L., Cornu, D., & Miginiac, E. 1988. Endogenous levels of abscisic acid, indole-3-acetic acid and benzyladenine during in vitro bud growth induction of Wild Cherry (*Prunus avium* L.). *Plant growth regulation*, 7(3): 171-180.
 160. Laborde-Cansino J. A. y Pozo-Campodónico O. 1982. Presente y pasado del chile en México. Publicación especial No. 85. INIA-SARH, México.
 161. Lanteri, S., Kraak, H.L., De Vos, C.H.R., Bino, R.J. 1993. Effects of osmotic preconditioning on nuclear replication activity in seeds of pepper (*Capsicum annuum*). *Physiol. Plant.* 89: 433-440.
 162. Lanteri, S., Saracco, F., Kraak, H.L. and Bino, R.J. 1994. The effects of priming on nuclear replication activity and germination of pepper (*Capsicum annuum*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*) seeds. *Seed Science Research* 4, 81 –87.
 163. Latournerie, L.; Moreno, V.; Fernández, L.; Pinedo, R.; Tun, J. M. y Tuxill J. 2009. Sistema tradicional de almacenamiento de semillas: Importancia e implicaciones en la conservación de la agrobiodiversidad. En: Hermann M, Amaya K, Latournerie L, Castiñeiras L, (editores). ¿Cómo conservan los agricultores sus

- semillas en el trópico húmedo de Cuba, México y Perú? Experiencias de un proyecto de investigación en sistemas informales de semillas de chile, frijoles y maíz. Bioersity International, Roma, Italia. 179p.
164. Lebuhn M.; Hartmann, A. 1993. Method for the determination of Indole-3-acetic acid and related compounds of L-tryptophan catabolism in soils. *J. of Chromatog.* 629:255-266.
 165. Leubner-Metzger, G. 2003. Functions and regulation of β -1,3-glucanases during seed germination, dormancy reléase and after-ripening. *Seed Science Research* 13:17-35.
 - 166.** Lewak, S. and Rychter, A. 1975. Metabolic aspects of embryonal dormancy in apple seeds. *Physiologie Vegetale*.
 167. Li, J., Xiao, L. T., Zeng, G. M., Huang, G. H., Shen, G. L., & Yu, R. Q. 2005. Immunosensor for rapid detection of gibberellin acid in the rice grain. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(5):1348-1353.
 168. Lim, H. E. y K. C. Wong. 1985. Influence of seedling age transplanting on the performance of chillies (*Capsicum chinense* Jacq.). Faculty of Agriculture. University of Malasya. Kuala 10 p.
 169. Liu Y, Bergervoet JHW, De Vos CHR, Hilhorst HWM, Kraak HL, Karssen CM, Bino RJ. 1994. Nuclear replication activities during imbibition of abscisic acid and gibberellin-deficient tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds. *Planta* 194:368-373.
 170. Liu Y, Hilhorst HWM, Groot SPC, Bino RJ. 1997. Amounts of nuclear DNA and internal morphology of gibberellin- and abscisic acid decient tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds during maturation, imbibition and germination. *Annals of Botany* 79:161-168.
 171. Ljung, K., Sandberg, G., & Moritz, T. 2010. Methods of plant hormone analysis. *Plant Hormones*, 717-740.
 172. Long S., J., M. Álvarez y A. Camarena.1999. Alimentos de México, el placer del chile. Editorial Clío, 2da edición, México, D.F. pp 9-94.
 173. Long, J. 1998. *Capsicum y cultura: la historia del chilli*. México, D. F., Fondo de Cultura Económica

174. Long-Solís J. 1986. *Capsicum* y cultura: la historia de Chile. Fondo de Cultura Económica, México. 203 p.
175. López L., P. y F. H. Castro G. 2006. La diversidad de los chiles (*Capsicum* spp., Solanaceae) de Oaxaca. In: López L. P y S. Montes H. (eds.). Avances de investigación de la red de hortalizas del SINAREFI. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Bajío. Celaya, Gto. México. 466 p. (Libro Científico Núm. 1). 135-178.
176. López, G. 2003. Chilli: La especia del Nuevo Mundo. Ciencias 69: 66-75.
177. Loureiro J, Rodriguez E, Doležal J, Santos C. 2006. Comparison of Four Nuclear Isolation Buffers for Plant DNA Flow Cytometry. *Annals of Botany* 98(3):679-689.
178. Luna R., J.J. 2010. Variedades de Chile y producción de semilla. In: Lara, H. A.; Bravo L., A. G.; Reveles H., M. (eds.). Memorias 1er foro para productores de Chile. Sistema Producto Chile Zacatecas. Zacatecas, Zac. Mexico. 227 p.
179. Macdonald MM and DJ Osborne. 1988. Synthesis of nucleic acids and protein in tuber buds of *Solanum tuberosum* during dormancy and early sprouting. *Physiol Plant* 73:392–400.
180. Maiti, R. K. 1986. morfología, crecimiento y desarrollo del sorgo. F.A.U.A.N.L. Marín. México.
181. Maiti, R. K., J. G. Almanza E., M. L. Cárdenas A., J. Hernández P. y J. Verde-Star. 1994. El Chile piquín (*Capsicum annuum* L. var. *aviculare* Dierb.) D. & E., una planta con potencial agrícola para las zonas semiáridas de México. Reforma, siglo XXI. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, N. L.
182. Maroto, J. V. 2002. *Horticultura Herbácea Especial*. Madrid, Mundi-Prensa. 5.ª edición; pp. 704.
183. McCarty, D. R. 1995. Genetic control and integration of maturation and germination pathways in seed development. *Annual review of plant biology*, 46(1), 71-93.
184. McDonald MB. 1998. Seed quality assessment. *Seed Science Research* 8: 265-275

185. McLeod M. J., S. I. Guttman y W. H. Eshbaugh. 1982. Early evolution of chili peppers (*Capsicum*). *Economic Botany* 36:361-368.
186. Medina, M. T.; Rodríguez del Bosque, L. A. y Villalón, M.A. 2006. El chile piquín *Capsicum annuum* L. var. *aviculare* en el noreste de México: aspectos ecológicos y socioeconómicos".
187. Meléndez G. R. 1998. Estudio de los componentes químicos en tres variedades mexicanas de *Capsicum annuum* (guajillo, ancho y multo). Tesis de Licenciatura (QFB). Facultad de Estudios Superiores de Zaragoza. 74 p.
188. Meyer S.E. and Monsen S.B. 1991. Habitat-correlated variation in mountain big sagebrush (*Artemisa tridentata* ssp. *vaseyana*) seed germination patterns. *Ecology*. 72:739–742.
189. Meyer, S. E. and Kitchen, S. G. 1994. Life history variation in blue flax (*Linum perenne*: Linaceae): seed germination phenology. *Am. J. Bot.* 81:528-535.
190. Meyer, S. E., Kitchen, S. G. and Carlson, S. L. 1995. Seed germination timing patterns in intermountain Penstemon (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany*, 377-389.
191. Montañón-Mata N. 2000. Efecto de la edad de transplante sobre el rendimiento de tres selecciones de Aji dulce (*C. annuum* L.).
192. Montes H., S., M. Ramírez M., H. Villalón M., T. Medina M., A. Morales C., E. Heredia G., J. M. Soto R., R. López de L., A. Cardona E. y H. L. Martínez T. 2006. Conservación y aprovechamiento sostenible de chile silvestre (*Capsicum* spp., Solanaceae) en México. In: López L. P y S. Montes H. (eds.). Avances de investigación de la red de hortalizas del SINAREFI. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Bajío. Celaya, Gto. México. 466 p. (Libro Científico Núm. 1). Pp. 71-134.
193. Montoya-Ballesteros, L.C. 2009. Calidad y valor agregado en chiltepín. Memoria. Foro Comunitario de chiltepín Región Río Sonora “El picante Sonorense”. Organizado por CONAFOR. 22 de abril de 2009.
194. Mooney, P.A. and Van Staden J. 1986. Algae and cytokinins. *Journal of plant physiology* 123(1):1-21.

195. Morales-Cuén, A. 1986. Ecología y productividad del chiltepín *Capsicum baccatum* L. bajo condiciones silvestres en la región del Río Sonora, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México.
196. Moreno, M. E. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Tercera Ed. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México. 393 p.
197. Moritz T. 1996. Mass spectrometry of plant hormones. *In* RP Newton, TJ Walton, *eds*, Applications of Modern Mass Spectrometry in Plant Science Research. Clarendon Press, Oxford, pp 139-158.
198. Müller, M. and Munné-Bosch S. 2011. Rapid and sensitive hormonal profiling of complex plant samples by liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Plant methods* 7(1): 37.
199. Munné-Bosch, S., Oñate, M., Oliveira, P. G. and Garcia Q.S. 2011. Changes in phytohormones and oxidative stress markers in buried seeds of *Vellozia alata*. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 206(8):704-711.
200. Nabhan, G., Slater, M. and Yarger, L. 1990. New Crops Small Farmers in Marginal Lands? Wild Chiles as a Case Study. En: M. Altieri M. and S. Hecht, S. (eds.) *Agroecology and Small Farm Development*, EUA, pp. 19-34.
201. Ni Di-an, Yu Xiao-hong, Wang Ling-jian, Xu Zhi-hong, 2002. Aberrant development of pollen in transgenic tobacco expressing bacterial *iaaM* gene driven by pollenand tape tum-specific promoters. *Acta Exp Sinica*. 35:1-6.
202. Nikolaeva, M.G. 1967. Physiology of deepdormancy in seeds. Izdatel'stvo "Nauka," Leningrad, Russia.
203. Nuez F., R. Gil Ortega and J. Costa. 2003. El Cultivo de Pimientos, Chiles y Ajíes. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 586 p.
204. Osuna, P. 1960. El cultivo de las hortalizas. Universidad de Puerto Rico. San Juan. Circular 52. 36p.

205. Otho M.A., S.L. Stone and J.J. Harada. 2000. Genetic control of seed development and seed mass. *In*: Seed Development, Dormancy and Germination. K J Bradford, H Nonogaki (eds). Blackwell Publishing. Iowa, USA. pp:1-49.
206. Oyama, K., Hernandez-Verdugo, S., Sanchez, C., González-Rodríguez, A., Sanchez-Pena, P., Garzon-Tiznado, J. A., and Casas, A. 2006. Genetic structure of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* (Solanaceae) from northwestern Mexico analyzed by RAPDs. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53(3):553-562.
207. Özbingöl, N., Corbineau, F., Groot, S. P. C., Bino, R.J. and Côme D. 1999. Activation of the cell cycle in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds during osmoconditioning as related to temperature and oxygen. *Annals of Botany* 84(2):245-251.
208. Pawlowski, T.A.; Bergervoet, J.H.W.; Bino, R.J.; Groot, S.P.C. 2004. Cell cycle activity and beta-tubulin accumulation during dormancy breaking of *Acer platanoides* L. seeds. *Biologia Plantarum* 48(2):211-218.
209. Pedraza Robles, L. C. y Gómez A. A. 2008. Análisis exploratorio del mercado y la comercialización de chile piquín (*Capsicum. annuum*, var. *aviculare*) en México.
210. Pennington, T. D. 2005. Árboles tropicales de México: manual para la identificación de las principales especies. UNAM.
211. Pérez-Gálvez, A., H. D. Martin, H. Sies and W. Stahl. 2003. Incorporation of carotenoids from paprika oleoresin into human chylomicrons. *British Journal of Nutrition* 89: 787-793.
212. Perry, L., and V. Kent. 2007. Precolumbian use of chili peppers in the valley of Oaxaca, México. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104:11905-11909.
213. Petruzzelli, L.; Muller, K.; Hermann, K. and Leubner-Metzger, G. 2003. Distinct expression patterns of β -1,3-gluconases and chitinases during the germination of Solanaceae seeds. *Seed Sci. Res.* 13:139-153.
214. Pickersgill, B .1971. Relationship between weedy and cultivated forms in some species of chilli peppers (genus *Capsicum*). *Evolution* 25: 683–691.

215. Pickersgill, B., C.B. Heiser, and J. McNeill. 1979. Numerical taxonomic studies on variation and domestication in some species of *Capsicum*. p. 679–700. In J.G. Hawkes, R.N. Lester, and A.D. Skelding (ed.) The biology and taxonomy of the Solanaceae. Academic Press, London.
216. Pickersgill, B. 1997. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica* 96:129-133.
217. Pons TJ. 1992. Seed responses to light. In: Fenner M, editor. Seeds: the ecology of regeneration in plant communities. CAB International, Wallingford, UK, pp. 259–284.
218. Popko, J., Hansch, R., Mendel, R., Polle, A., Teichmann, T. 2010. The role of abscisic acid and auxin in the response of poplar to abiotic stress. *Plant Biol.* 12:242-258.
219. Priestley, D. A. 1986. Seed ageing: implications for seed storage and persistence in the soil. New York, Comstock. Puente, P. C. y Bustamante, G. L. 1991. Efecto del estado de madurez y posmaduración del fruto de chile (*Capsicum annuum* L.) sobre la calidad de su semilla. Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas A. C. IV Congreso Nacional. Saltillo, Coahuila, México. 187 p.
220. Puente, P. C. y Bustamante, G. L. 1991. Efecto del estado de madurez y posmaduración del fruto de chile (*Capsicum annuum* L.) sobre la calidad de su semilla. Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas A. C. IV Congreso Nacional. Saltillo, Coahuila, México. p. 187.
221. Rademacher, W., and Graebe, J.E. 1984. Isolation and Analysis by Gas- liquid Chromatography of Auxins, Gibberellins, Cytokinins, and Absciscic Acid from a Single Sample of Plant Material. *Plant Biology* 97(1):75-85.
222. Ramírez M. M. 2001. Inducción de la germinación en semilla de chile piquín. 13° Encuentro de Investigación Científica y Tecnológica del Golfo de México (Memoria). p.31.
223. Ramírez-Meraz, M., C. O. Pozo, L. A. Rodríguez del Bosque. 2003. Tecnología para inducir la germinación en chile piquín. In: Rodríguez del Bosque, L. A. (ed). Memoria del 1er. Simposium regional de chile piquín: avances de

- investigación en tecnología de producción y uso racional del recurso silvestre. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Río Bravo, México. Publicación especial. Núm. 26. 35-36 pp.
224. Randle, W. M. and Homna, S. 1981. Dormancy in peppers. *Scientia Hort.* 14:19-25.
225. Rani-K; Natarajan-S; Thamburaj-S. 1996. Correlation and path analysis in chilli (*Capsicum annuum* L.). *South Indian Horticulture* 44:1-2, 8-11.
226. Reveles-Hernández, M., Velásquez-Valle, R., Reveles-Torres, L.R. y Mena-Covarrubias, J. 2013. Selección y conservación de semilla de chile: Primer paso para una buena cosecha. Folleto Técnico. Núm. 51. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC-INIFAP, 43 páginas.
227. Riefler, M., Novak, O., Strnad, M., Schmulling, T. 2006. Arabidopsis cytokinin receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed Size, germination, root development, and cytokinin metabolism. *Plant Cell* 18, 40–54.
228. Rivier L, Crozier A. 1987. Principles and Practice of Plant Hormone Analysis, Vol 1 and 2. Academic Press, London, 401 pp.
229. Robles-Parra, J.M. 2009. Dimensión económica de la recolección del chiltepín en el Río Sonora. Memoria del Foro Comunitario de Chiltepín, Región Río Sonora “El picante Sonorense”. Organizado por CONAFOR. 22 de abril de 2009.
230. Rock CD y Zeevaart JAD. 1993. Ácido abscísico. In: Azcon-Bieto J y Talón M (eds) Fisiología y Bioquímica Vegetal. MacGraw-Hill Interamericana, Madrid. 327-341
231. Rock, C.D. and Quatrano R.S. 1995. The role of hormones during seed development. In *Plant hormones*. Springer Netherlands. 671-697
232. Rodríguez del Bosque, L. A., M. Ramírez Meráz y O. Pozo Campodónico. 2004. Tecnología de producción de chile piquín en el noreste de México. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Río Bravo. Folleto Técnico Núm. 29. Tamaulipas, México, 33p.

233. Romberger, J.A. 1963. Meristems, growth, and development in woody plants: An analytical review of anatomical, physiological, and morphogenic aspects (No. 1293). US Government Printing Office.
234. Ross, J.D. 1996. Dormancy breakage by chilling: phytochrome, calcium and calmodulin. - In: Lang, G.A. (ed.): Plant Dormancy: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. Pp. 157-170. CAB International, Wellingford.
235. Sánchez, M.V.; Sundstrom, F.J.; McClure, G.N.; and Lang, N.S. 1993. Fruit maturity, storage and postharvest maturation treatments affect bell pepper (*Capsicum annuum* L.) seed quality. *Scientia Horticulture*. 54:191-201.
236. Sánchez, M.P., S.H. Gurusinghe, K.J. Bradford and J.M. Vázquez R. 2005. Differential response of PCNA and Cdk-A proteins and associated kinase activities to benzyladenine and abscisic acid during maize seed germination. *J. Exp. Bot.* 56: 515–523.
237. Sandberg G, Crozier A, Ernstsén A. 1987. Indole-3-acetic acid and related compounds. In L Rivier, A Crozier, eds, *Principles and Practice of Plant Hormone Analysis*, Vol 2. Academic Press, London, pp 169-302.
238. Sanhewe, A.J. and Ellis, R.H. 1996. Seed development and maturation in *Phaseolus vulgaris*. II. Post-harvest longevity in air-dry storage. *Journal of Experimental Botany*. 47:959.
239. Sato T; Yazawa S; and Namiki T. 1982. Requirement of alternating temperature for germination of pepper seeds. *Scientific Reports of the Kyoto Prefectural University, Agriculture* 34:21-27
240. Sayed M. S. and M. Essam. 1952. Viability of seeds harvested from fruits at different stages of maturity. *Proceedings of American Society for Horticultural Science* 60:327-329.
241. Schneider GW, Kazakoff CW, Wightman F. 1985. Gas chromatography-mass spectrometry evidence for several endogenous auxins in pea seedling organs. *Planta*, 165:232-241.
242. Schütz, W., and G. Rave. 2003. Variation in seed dormancy of the wetland sedge, *Carex elongata*, between populations and individuals in two consecutive years. *Seed Sci. Res.* 13: 315–322.

243. Sembdner G, Gross D, Liebisch HW and Schneider G. 1980. Biosynthesis and metabolism of plant hormones. Encyclopedia of Plant Physiology. New Ser. Vol. 9, Springer-Verlag, Berlin, pp. 281-444.
244. Sergeeva, E., Liaimer, A. and Bergman, B. 2002. Evidence for production of the phytohormone indole-3-acetic acid by cyanobacteria. *Planta* 215(2):229-238.
245. Shapiro, H. M. and Shapiro, H.M. 2003. Practical flow cytometry.
246. Shaw G. 1994. Chemistry of adenine cytokinins. In: Mok DWS, Mok MC (eds) Cytokinins: Chemistry, Activity, and Function. CRC Press, pp, Boca Raton, FL, pp 15–34.
247. Shinnars L.H. 1956. Technical names for the cultivated *Capsicum* peppers. *Baileya* 4:81-83.
248. Shuff T. y J.F. Thomas, 1993. Normal floral ontogeny and cool temperature-induced aberrant floral development in *Glycine max* (Fabaceae). *Am J Bot* 80: 429-448.
249. Silva AG, Freitas L and Pires PA. 2014. A Fournier Index upgrade as a new approach for quantitative phenological studies in plant communities. *Tropical Ecology*, 55 (1): 137-142.
250. Slavov, S., van Onckelen, H., Batchvarova, R., Atanassov, A. and Prinsen, E. 2004. IAA production during germination of *Orobanch* spp. seeds. *Journal of plant physiology*, 161(7), 847-853.
251. Sliwinska E. 2000. Analysis of the cell cycle in sugarbeet seed during development, maturation and germination. In: Black M, Bradford KJ, Vázquez-Ramos J, editors., eds, Seed biology. Advances and applications Oxford: CAB International; 133–139.
252. Sliwinska E, George W. Bassel and J. Derek Bewley. 2009. Germination of *Arabidopsis thaliana* seeds is not completed as a result of elongation of the radicle but of the adjacent transition zone and lower hypocotyl, *Journal of Experimental Botany*, Volume 60, Issue 12:3587–3594.
253. Sliwinska, E., Zielinska, E. and Jedrzejczyk, I. (2005. Are seeds suitable for flow cytometric estimation of plant genome size?. *Cytometry*, 64A: 72–79.

254. Smith, P. G. y C. B. Heiser Jr. 1957. Taxonomy of *Capsicum sinense* Jacq. and the geographic distribution of the cultivated *Capsicum* species. Bulletin of the Torrey Botanical Club 84: 413-420.
255. Smith WK, Volgemann TC, Delucia EH, Bell DT. 1997. Leaf form and photosynthesis. BioScience 47: 785-793.
256. Souza, A.F., D.U. de Matos, C. Forgiarini, J. Martínez. 2010. Seed crop size variation in the dominant South American conifer *Araucaria agustifolia*. *Acta oecologica*, 36: 126-134.
257. Sponsel, V.M. 1983. The localization, metabolism and biological activity of gibberellins in maturing and germinating seeds of *Pisum sativum* cv. Progress No. 9. *Planta*, 159(5):454-468.
258. Steber, C.M. and McCourt P. 2001. A role for brassinosteroids in germination in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 125, 763–769.
259. Steiner P. 2012. Small-scale organic seed production. FarmFolk/CityFolk Society. Canada. 40p.
260. Sukprakarn, S.; Juntakool, S.; Huang, R. and T. Kalb. 2005. Saving your own vegetable seeds-a guide for farmers. AVRDC publication number 05-647. AVRDC-The World Vegetable Center, Shanhua, Taiwan. 25 pp.
261. Suttle JC. 1998. Involvement of ethylene in potato microtuber dormancy. *Plant Physiol* 118:843-848.
262. Suttle JC and Hultstrand JF. 1994. Role of endogenous abscisic acid in potato microtuber dormancy. *Plant Physiol*. 105:891-896.
263. Suttle, J.C. and Banowetz, G.M. 2000. Changes in cis-zeatin and cis-zeatin riboside levels and biological activity during potato tuber dormancy. *Physiologia Plantarum* 109(1):68-74.
264. Sybenga, J. 1972. General cytogenetics. Elsevier, New York, NY.
265. Tamas, I.A., Schlossberg-Jacobs, J.L., Lim, R., Friedman, L.B. and Barone, C.C. 1989. Effect of plant growth substances on the growth of axillary buds in cultured stem segments of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant growth regulation* 8(2): 165-183.

266. Tay SAB, McLeod JK and Palni LMS. 1986. On the reported occurrence of *cis*-zeatin riboside as a free cytokinin in tobacco shoots. *Plant Sci* 43:131–134.
267. Tay, D. 2004. Seed technology in plant germplasm conservation. *HortScience* 39(4):753.
268. Tewksbury, J. J., G. P. Nabhan, D. Norman, H. Suzán, J. Tuxill and J. Donovan. 1999. *In situ* conservation of wild chiles and their biotic associates. *Conservation Biology* 13: 98-107.
269. Tieu, A., K.W. Dixon, K.A. Meney, K. Sivasithamparam and R.L. Barrett. 2001. Spatial and developmental variation in seed dormancy characteristics in the fire-responsive species *Anigozanthos manglesii* (Haemodoraceae) from Western Australia. *Annals of Botany* 88:19-26.
270. Tillberg, E. 1974. Levels of Indol- 3yl- acetic Acid and Acid Inhibitors in Green and Etiolated Bean Seedlings (*Phaseolus vulgaris*). *Physiologia Plantarum* 31(2):106-111.
271. Tommasi, F., C. Paciolla, M.C. de Pinto and L. de Gara. 2006. Effects of storage temperature on viability, germination and antioxidant metabolism in *Ginkgo biloba* L. seeds. *Plant Physiol. Biochem.* 44:359-368.
272. Toyomasu, T., Yamane, H., Murofushi, N. and Inoue Y. 1994. Effects of exogenously applied gibberellin and red light on the endogenous levels of abscisic acid in photoblastic lettuce seeds. *Plant Cell Physiol.* 35:127-129.
273. Turnbull CGN and Hanke DE. 1985. The control of bud dormancy in potato tubers. Evidence for the primary role of cytokinins and aseasonal pattern of changing sensitivity to cytokinin. *Planta* 165:359–365.
274. Valadez-Bustos M.G. and Aguado-Santacruz G.A. 2009. In vitro propagation and agronomic performance of regenerated chili pepper (*Capsicum* spp.) plants from commercially important genotypes. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant* 45:650-658.
275. Vallejo, C. F. y Estrada, S. E. 2004. Producción de hortalizas de clima cálido. 3a (Ed.). Editorial Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 44 p
276. Vásquez Dávila M.A.1996. Conocer y crear: dos aspectos de la etnoecología chontal de Tabasco, México. *Etnobiológica* Vol. 3 No. 45.

277. Vergara S.J. 1982. Estudio preliminar de la germinación en chile piquín (*Capsicum frutescens* L.) Monterrey, N. L., México. I. T. E. S. M.
278. Villalón H., Medina T., Soto J. M., Rodríguez L. A., Pozo O., Ramírez M., Garza F., López R., López A.R. y M. Lara L. 2013. Efecto de diferentes intensidades de luz en la producción de chile piquín (*Capsicum annuum* L. var *aviculare*). Revista Ciencia-UANL.
279. Villalón, M.H.; Medina, M.T.; Rodríguez, B.J.L.; Pozo, C.O.; Garza, O.F.; López, L.R.; Soto, R.J.M.; Lara, V.M. and López, A.R. 2002. Wild chili pepper: a potential forest resource for sustainable management in northeastern México. Proc. 16th. International Pepper Conference. Tampico, Tamaulipas, México. 15.
280. Wall A. D.; Kochevar R. and Phillips R. 2002. Chile Seed Quality. New Mexico Chile Task Force. Report 4. New Mexico State University. Cooperative Extension Service. College of Agriculture and Home Economics. 7p.
281. Wall A. D.; Kochevar R. and Phillips R. 2003. Guidelines for Chile Seed Crop Production. New Mexico Chile Task Force. Report 5. New Mexico State University. Cooperative Extension Service. College of Agriculture and Home Economics. 4 p.
282. Wang M, Heimovaara-Dijkstra S, Van Duijn B. 1995. Modulation of germination of embryos isolated from dormant and non-dormant barley grains by manipulation of endogenous abscisic acid. Planta 195:586–592.
283. Wareing, P.F. 1982. Hormonal regulation of seed dormancy - past, present and future. In: Khan, A.A. (ed.): The Physiology and Biochemistry of Seeds Development, Dormancy and Germination. Pp. 185-202. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.
284. Wareing Y. and PF Saunders.1971. Hormones and Dormancy. Annual Review of Plant Physiology 22(1):261-288.
285. Watkins, J. T. and Cantliffe D. J. 1983. Mechanical resistance of the seed coat and endosperm during germination of *Capsicumm annuum* at low temperature. Plant Physiol. 72:146-150.

286. Watkins, J. T.; Cantliffe, D. J.; Huber, D. J. and Nell, T.A. 1985. Gibberellic acid stimulated degradation of endosperm in pepper. J. Am. Soc. Hort. Sci. 110(1):61-65.
287. Wiltshire, J. J. J. and Cobb, A. H. 1996. A review of the physiology of potato tuber dormancy. Annals of Applied Biology, 129:553-569.
288. Wu-Heming; Zhao-Hualun; She-Jianming; Ding-Liping and Sun-Jiebo. 1996. Fertilization and Embryogenesis of *Capsicum frutescens* C. *chínense*. Acta Horticulture Sinica 23(3):246-249.
289. Yamamoto, S. and E. Nawata. 2005. *Capsicum frutescens* L. in southeast and east Asia, and its dispersal routes into Japan. Economic Botany 59(1):18-28.
290. Zapata M.; Bañon S. y Cabrera P. 1992. El pimiento para pimentón. Ediciones Mundiprensa. Madrid. España. 41, 42
291. Źarska Maciejewska, B.O.Ź.E.N.A., Sińska, I., Witkowska, E. and Lewak S. 1980. Low Temperature, Gibberellin and Acid Lipase Activity In removal of apple seed dormancy. Physiologia Plantarum 48(4):532-535.

RESUMEN BIOGRÁFICO

Biól., M.C. Alma Paula López Valdez

Candidato para el grado de

Doctor en Ciencias con Acentuación en Manejo y
Administración de Recursos Vegetales

TESIS: BIOLOGIA DE LA LATENCIA EN SEMILLAS DE CHILE PIQUIN
Capsicum annuum var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill. EL PAPEL DE
LAS FITOHORMONAS

Campo de estudio: Biología

Datos Personales: Nacida en Tapachula, Chiapas, el 24 de febrero de 1980.

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, obteniendo el grado de Biólogo en 2006.

Experiencia Profesional: Ambiental